

**IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE**

In re U.S. Patent Application of )

OKANO et al )

Application Number: To Be Determined )

Filed: Concurrently Herewith )

FOR: ELECTROPHORESIS CHIP )

Honorable Assistant Commissioner  
for Patents  
Washington, D.C. 20231

J1017 U.S. PTO  
10/084505  
02/28/02

*[Handwritten signature]*  
*[Handwritten signature]*  
5/8/02

**REQUEST FOR PRIORITY**  
**UNDER 35 U.S.C. § 119**  
**AND THE INTERNATIONAL CONVENTION**

Sir:

In the matter of the above-captioned application for a United States patent, notice is hereby given that the Applicant claims the priority date of December 18, 2001, the filing date of the corresponding Japanese patent application 2001-385018

The certified copy of corresponding Japanese patent application 2001-385018 is being submitted herewith. Acknowledgment of receipt of the certified copy is respectfully requested in due course.

Respectfully submitted,

*[Handwritten signature of Stanley P. Fisher]*

Stanley P. Fisher  
Registration Number 24,344

**REED SMITH LLP**  
3110 Fairview Park Drive  
Suite 1400  
Falls Church, Virginia 22042  
(703) 641-4200  
February 28, 2002

**JUAN CARLOS A. MARQUEZ**  
Registration No. 34,072

(Translation)

PATENT OFFICE  
JAPANESE GOVERNMENT



This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

Date of Application: December 18, 2001

Application Number: Japanese Patent Application  
No. 2001-385018

Applicant(s): HITACHI, LTD.

February 26, 2002

Commissioner,  
Patent Office

Kozo OIKAWA (seal)

Certificate No. 2002-3011091

日 本 国 特 許 庁  
JAPAN PATENT OFFICE

J11017 U.S. PTO  
10/084505  
02/28/02

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office

出 願 年 月 日

Date of Application:

2001年12月18日

出 願 番 号

Application Number:

特願2001-385018

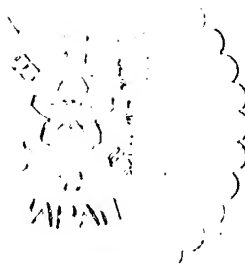
[ST.10/C]:

[JP2001-385018]

出 願 人

Applicant(s):

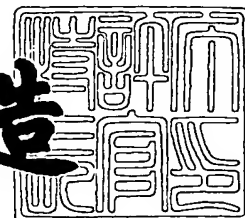
株式会社日立製作所



2002年 2月26日

特 許 庁 長 官  
Commissioner,  
Japan Patent Office

及 川 耕 造



出証番号 出証特2002-3011091

【書類名】 特許願

【整理番号】 H101487

【提出日】 平成13年12月18日

【あて先】 特許庁長官 殿

【国際特許分類】 G01N 27/447

【発明者】

【住所又は居所】 東京都国分寺市東恋ヶ窪一丁目 2 8 0 番地 株式会社  
日立製作所 中央研究所内

【氏名】 岡野 和宣

【発明者】

【住所又は居所】 東京都江東区潮見 2 - 8 - 1 4 - 1 0 1 4

【氏名】 安田 賢二

【特許出願人】

【識別番号】 000005108

【氏名又は名称】 株式会社 日立製作所

【代理人】

【識別番号】 100091096

【弁理士】

【氏名又は名称】 平木 祐輔

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 015244

【納付金額】 21,000円

【その他】 国等の委託研究の成果に係る特許出願（平成12年度新  
エネルギー・産業技術総合開発機構（再）委託研究、産  
業活力再生特別措置法第30条の適用を受けるもの）

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 電気泳動チップ

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 電気絶縁性の基板と、前記基板の表面に線状に形成された泳動媒体とを備え、前記基板表面の前記泳動媒体に隣接する領域が疎水性であることを特徴とする電気泳動チップ。

【請求項 2】 表面に線状の親水性領域と前記親水性領域に接する疎水性領域とを有する電気絶縁性の基板と、前記基板の前記親水性領域上に長手方向の一方所に所定長の間隙を設けて形成された泳動媒体と、前記泳動媒体の長手方向の両端部に接続される一対の電極とを備えることを特徴とする電気泳動チップ。

【請求項 3】 請求項 1 又は 2 記載の電気泳動チップにおいて、前記基板はガラスであることを特徴とする電気泳動チップ。

【請求項 4】 請求項 1 又は 2 記載の電気泳動チップにおいて、前記泳動媒体はゲルであることを特徴とする電気泳動チップ。

【請求項 5】 請求項 2 記載の電気泳動チップにおいて、試料を前記間隙に保持することを特徴とする電気泳動チップ。

【請求項 6】 請求項 2 記載の電気泳動チップにおいて、前記間隙は前記泳動媒体の長手方向中心から一方の端部に偏った位置に設けられていることを特徴とする電気泳動チップ。

【請求項 7】 請求項 6 記載の電気泳動チップにおいて、前記間隙によって二分された前記泳動媒体の 2 つの要素媒体のうち長い方の要素媒体の長さが 1 0 mm から 1 0 0 mm の範囲にあることを特徴とする電気泳動チップ。

【請求項 8】 請求項 1 又は 2 記載の電気泳動チップにおいて、前記泳動媒体の幅が 0. 1 mm から 5 mm の範囲にあることを特徴とする電気泳動チップ。

【請求項 9】 請求項 1 記載の電気泳動チップにおいて、前記間隙の前記長手方向の長さが 0. 2 mm から 1 mm の範囲にあることを特徴とする電気泳動チップ。

【請求項 1 0】 表面にほぼ平行に形成された線状の複数の親水性領域と前記親水性領域に隣接して設けられた疎水性領域とを有する電気絶縁性の基板と、

前記基板の前記複数の親水性領域上に各々長手方向の一カ所に所定長の間隙を設けて形成された複数の泳動媒体と、前記複数の泳動媒体の両端部にそれぞれ共通して接続される一組の電極とを備えることを特徴とする電気泳動チップ。

【請求項 1 1】 表面にほぼ平行に形成された線状の複数の親水性領域と前記親水性領域に隣接して設けられた疎水性領域とを有する電気絶縁性の基板と、前記基板の前記複数の親水性領域上に各々長手方向の一カ所に所定長の間隙を設けて形成された複数の泳動媒体と、前記複数の泳動媒体の両端部にそれぞれ個別に接続される複数組の電極とを備えることを特徴とする電気泳動チップ。

【請求項 1 2】 表面に細長い形状を有する親水性領域と前記親水性領域を取り囲む疎水性領域とを有する電気絶縁性の基板と、前記基板の前記親水性領域上に長手方向の一カ所に所定の間隙を設けて形成された泳動媒体とを備え、前記泳動媒体と前記間隙に供給される試料溶液とにより電気泳動路が形成されることを特徴とする電気泳動チップ。

【発明の詳細な説明】

【 0 0 0 1 】

【発明の属する技術分野】

本発明は、生体試料の分離分析装置に関し、特に、ゲノム由来の DNA 断片、RNA 由来のポリヌクレオチド断片、タンパク質、ペプチド等の分離分析に好適な電気泳動チップ、及びこれを用いる電気泳動装置に関するものである。

【 0 0 0 2 】

【従来の技術】

生体物質の分析や分取には電気泳動を用いた分離技術が最も広く用いられている。例えば、DNA 解析の分野では、ポリアクリルアミドゲル電気泳動を用いて DNA の配列決定が頻繁に行われている。既に、大腸菌、酵母のような微生物の全ゲノム配列が解明され、多細胞生物では、線虫、ハエの全ゲノムがほぼ解明されている。ヒトの全ゲノム配列は 2 0 0 0 年代の早い時期に配列解析が終了する予定である。このような高分解能を有する電気泳動の泳動媒体としては、ポリアクリルアミドゲルのほか、メチルセルロースやアクリルアミドポリマーやその誘導体からなる高分子が用いられる。

## 【 0 0 0 3 】

電気泳動では一般的に、泳動媒体としてポリマーを用い、それをシリカ系の材料やプラスチックでできたキャピラリーの中に充填して用いられることが多い (Anal. Chem. (1992) 64,967-972)。また、DNA 試料調製や PCR 産物のチェックには、アガロースゲルを泳動媒体とする電気泳動装置が頻繁に用いられている。最近では、ガラスやプラスチックを基板として使用し、この基板に微細な溝を形成し、それに他の基板を表面カバーとして接着することで、キャピラリー構造を形成する技術が発達し、これを用いた電気泳動チップが実用段階に来ている (Anal. Chem. (1992) 64,1926-1932, Anal. Chem. (1995) 67,3676-3680)。いずれの方法でも、キャピラリー内部や基板 (ガラス) 内部に形成された実質的にキャピラリー状の区切られた領域に泳動媒体を形成する構造となっている。

## 【 0 0 0 4 】

## 【発明が解決しようとする課題】

従来、塩基配列決定のように DNA 断片の泳動分離を高分解能に行う電気泳動では、キャピラリー内部や基板 (ガラス) 内部の溝状に区切られた領域に泳動媒体が形成されている。一般に、ゲルを形成する場合、キャピラリーのような鑄型にゲル前駆体やポリマーを流し込む方法が作製法としては容易だからである。従来のゲル作製法では、内径  $50\ \mu\text{m}$  程度のキャピラリー毎にゲル前駆体やポリマーを流し込む必要があり、一般的には、1) 各キャピラリーにポンプをつなぎゲル前駆体やポリマーを流し込む行程、2) ポンプとキャピラリーの接合部分を、弁を介して断ち切る行程、が必要で、特にアガロースのような自己形成ゲルを充填する上で問題が残る。すなわち、アガロースは  $70\sim 90^{\circ}\text{C}$  程度の高温で融解し  $40\sim 60^{\circ}\text{C}$  の低温で凝固する性質があるため、ポンプ内でアガロースがゲル化するなどの問題があり、扱いが容易ではない。ポリアクリルアミドゲルの場合も同様で、ポンプ内でゲル化がおきるため、ポンプや弁を含むゲル前駆体流路のメンテナンスが大変になる問題があり、工業的な実用化には至っていないのが現状である。他の問題として、鑄型となるキャピラリーの内径の精度に従ってゲル形状を容易に再現できる反面、必ず管壁が存在することに起因する重大な問題があった。すなわち、ゲル前駆体がゲル化する時の断面積が狭く、ゲル体積に対し



て壁面の表面積が広いため、ゲル化に伴いゲルの収縮が起きてヒステリシスを受け、このため泳動状態によっては、分離能の低下や最悪の場合ゲルが切断される問題が起きていた。

## 【 0 0 0 5 】

また、キャピラリー方式の場合、実際に泳動分離に利用される試料容量は数十～数百 n L（ナノリットル）であるにもかかわらず、キャピラリーへの試料注入技術が未熟なため、十数  $\mu$  L（マイクロリットル）の試料容量を必要とするのが現状である。即ち、電気泳動に必要な試料容量の数十から数百倍の試料が無駄となっているのが現状であり、極微量の試料ハンドリング技術の確立が重要な技術課題となっている。

## 【 0 0 0 6 】

他方、水平平板式の旧来のアガロース電気泳動では、上面がオープンな構造の鋳型に溶融したアガロースを流し込み、ゲルを形成させるのみでよい。従って、ゲルの作製が容易である。旧来のアガロース電気泳動では、電気泳動用の緩衝液の中にゲルを浸漬して使用する。少なくともゲルの上面はガラスやプラスチックのような固体界面と接していないので、界面の影響を少なくすることができる。試料注入においては、ゲル作製時に凹面を形成した位置に比重を大きくした試料を添加する方法がとられている。通常、数  $\mu$  L の試料を用いている。

## 【 0 0 0 7 】

旧来のアガロース電気泳動では試料体積がマイクロリットルのオーダーで、将来的には微量な試料を用いて高感度に分析を行おうとする技術の流れに沿うものではない。実際、アガロース電気泳動と同様な分離性能を有し、しかも安いコストで多量に供給ができると考えられる電気泳動チップを用いる電気泳動が、今後、主流になると考えられるが、キャピラリー方式と同様に、基板に形成した溝（キャピラリー）に泳動媒体（ゲル）を充填する方法、極微量の試料を泳動媒体に注入する技術が確立されておらず、試料注入に手間がかかり、必要以上に大量の試料が必要である問題があった。

本発明の目的は、微量試料の注入を容易に行うことのできる電気泳動チップ、及びこれを用いる電気泳動装置、電気泳動チップの製造方法を提供することにあ

る。

【 0 0 0 8 】

【課題を解決するための手段】

本発明では、電気絶縁性の基板の表面に、細長い形状の親水性領域と、この親水性領域を囲むように疎水性領域とを形成し、親水性領域にゲル（泳動媒体）を形成することで、ゲルの形状を再現性良く形成できる電気泳動チップを実現する。ゲル前駆体溶液は、親水性であるため、基板表面の親水性領域のみに付着する。疎水性領域ではゲル前駆体溶液がはじかれてしまうため、容易に除去できる。親水性領域にとどまるゲル前駆体溶液の量は、基板表面の疎水性領域の疎水度と親水性領域の親水度とゲル前駆体溶液の親水度により決まるので、一定量の電気泳動ゲル（泳動媒体）が親水性領域に形成される。

【 0 0 0 9 】

作製した電気泳動チップは、アガロース電気泳動と同様にサブマリン形式で使うことができるし、電気泳動チップを加温箱に入れて、ゲルの片面が空気ないし不活性ガスに接した形での電気泳動が可能となる。これにより、電気浸透流など荷電界面の存在に影響する分解能の低下を、従来のキャピラリーを用いる方式に比べ抑えることができる。

【 0 0 1 0 】

極微量の試料溶液を注入する問題は、基板表面に形成する疎水性領域と親水性領域のパターン形状を工夫することにより解決できる。基板表面に疎水性領域と親水性領域を設けるが、細長い形状の親水性領域を長手方向で分断した構成とする。即ち、長手方向に細長い形状の第1、第2の親水性領域を形成し、第1、第2の親水性領域の一方の末端を間隙（ギャップ）をおいて隣接させる。第1、第2の親水性領域を取り囲むように疎水性領域が形成される。第1、第2の親水性領域にはゲル（泳動媒体）が形成され、第1、第2の電気泳動路となる。

【 0 0 1 1 】

間隙の領域に試料を含む試料溶液を供給し、第1、第2の親水性領域のゲル（泳動媒体）の間に試料溶液で液絡を形成して、第1、第2の電気泳動路を連結する。間隙の領域への試料溶液の供給は、マイクロディスペンサで直接間隙部分に

滴下することで行うことができる。また、別の試料溶液供給方法では、先端のごく一部が親水性で、それ以外の部分が疎水性である細いピン（ニードル）を試料溶液に浸し、引き上げてピンの先端に液滴を形成し、この液滴を、基板上の疎水性領域に接触させる。すると、液滴は、ピンと基板に形成された疎水性領域との間の空間に保持される。ピンを動かすと液滴を任意の方向に移動させることができる。ピンがゲル（泳動媒体）に設けた間隙の部分を通過すると、液滴が親水性である第1、第2の親水性領域のゲル（泳動媒体）移り、液滴が実質的に間隙の部分に保持され、試料溶液の供給が完了する。

#### 【0012】

液滴により液絡が形成されると直ちに電気泳動が実行可能である。間隙の大きさ、即ち、間隙の幅（第1、第2の親水性領域の幅）、間隙長（ギャップ長）を加減することと、試料溶液をピンの先端に液滴の形で保持して間隙に供給することにより、サブ $\mu$ Lの試料注入が可能である。

また、本発明の別の電気泳動チップは、電気絶縁性の2枚の基板の各基板表面に、細長い親水性領域の複数を所定の間隔をおいて平行に形成し、複数の親水性領域以外の面に疎水性領域を形成する。親水性領域が対向するように2枚の基板を、数十 $\mu$ mから1mm程度のギャップをおいて平行に固定する。そして、ギャップ内にゲル前駆体溶液を流し込み、2枚の基板の対向する親水性領域の間にゲル（泳動媒体）を形成しても良い。この場合、界面の影響は増大するが、電気泳動中のゲル（泳動媒体）の乾燥収縮を防ぐ上で効果的である。

#### 【0013】

以上の説明では、電気絶縁性の基板に疎水性領域、親水性領域を形成したが、電気絶縁性の疎水性基板の表面を改質して、所望の形状の親水性領域を疎水性基板に形成することもできる。また、逆に、電気絶縁性の親水性基板の表面を改質して、所望の形状の親水性領域が残るように、疎水性領域を形成することもできる。

#### 【0014】

以下に、本発明の態様を列挙する。

(1) 電気絶縁性の基板と、基板の表面に線状に形成された泳動媒体とを備え、

基板表面の泳動媒体に隣接する領域が疎水性であることを特徴とする電気泳動チップ。

(2) 表面に線状の親水性領域と親水性領域に接する疎水性領域とを有する電気絶縁性の基板と、基板の親水性領域上に長手方向の一方所に所定長の間隙を設けて形成された泳動媒体と、泳動媒体の長手方向の両端部に接続される一対の電極とを備えることを特徴とする電気泳動チップ。

(3) 前記(1)又は(2)記載の電気泳動チップにおいて、基板はガラスであることを特徴とする電気泳動チップ。

(4) 前記(1)又は(2)記載の電気泳動チップにおいて、泳動媒体はゲルであることを特徴とする電気泳動チップ。

(5) 前記(2)記載の電気泳動チップにおいて、試料を間隙に保持することを特徴とする電気泳動チップ。

(6) 前記(2)記載の電気泳動チップにおいて、間隙は泳動媒体の長手方向中心から一方の端部に偏った位置に設けられていることを特徴とする電気泳動チップ。

(7) 前記(6)記載の電気泳動チップにおいて、間隙によって二分された前記泳動媒体の2つの要素媒体のうち長い方の要素媒体の長さが10mmから100mmの範囲にあることを特徴とする電気泳動チップ。

#### 【0015】

本発明の電気泳動チップで、実際の電気泳動分離を行うには泳動媒体の長さは最低でも10mmは必要になる。これで、2倍の塩基長の差を見ることができる。また、DNAの長さの10%の精度で分離を行うには100mmの長さがあれば充分である。

(8) 前記(1)又は(2)記載の電気泳動チップにおいて、泳動媒体の幅が0.1mmから5mmの範囲にあることを特徴とする電気泳動チップ。

#### 【0016】

本発明の方法によって線状にゲルを作成するには、幅として0.1mm以上、できれば0.2mm以上が必要である。泳動媒体の幅が5mmを超えると、平面状にゲルを形成した場合と大差なくなり、本発明の方法のメリットが薄れてしま

う。

(9) 前記(1)記載の電気泳動チップにおいて、間隙の前記長手方向の長さが0.2mmから1mmの範囲にあることを特徴とする電気泳動チップ。

【0017】

間隙を作成する上で重要なのは、ゲルの幅と間隙の長さの比である。ゲルの幅が最低の0.1mmでは、間隙も0.1mmから0.2mm程度が良いが、幅が大きくなると間隙長の上限はほぼ1mmとなる。間隙長が1mmを超えると水溶液を保持するのが難しくなる。

(10) 表面にほぼ平行に形成された線状の複数の親水性領域と親水性領域に隣接して設けられた疎水性領域とを有する電気絶縁性の基板と、基板の複数の親水性領域上に各々長手方向の一カ所に所定長の間隙を設けて形成された複数の泳動媒体と、複数の泳動媒体の両端部にそれぞれ共通して接続される一組の電極とを備えることを特徴とする電気泳動チップ。

(11) 表面にほぼ平行に形成された線状の複数の親水性領域と親水性領域に隣接して設けられた疎水性領域とを有する電気絶縁性の基板と、基板の複数の親水性領域上に各々長手方向の一カ所に所定長の間隙を設けて形成された複数の泳動媒体と、複数の泳動媒体の両端部にそれぞれ個別に接続される複数組の電極とを備えることを特徴とする電気泳動チップ。

(12) 表面に細長い形状を有する親水性領域と親水性領域を取り囲む疎水性領域とを有する電気絶縁性の基板と、基板の親水性領域上に長手方向の一カ所に所定の間隙を設けて形成された泳動媒体とを備え、泳動媒体と前記間隙に供給される試料溶液とにより電気泳動路が形成されることを特徴とする電気泳動チップ。

【0018】

#### 【発明の実施の形態】

以下、図面を参照して本発明の実施の形態を説明する。

#### 〔実施の形態1〕

図1及び図2は、本発明による電気泳動チップの構成例を説明する図である。図1は電極装着前の電気泳動チップを表し、図1(a)は平面図、図1(b)はそのAA'断面図である。図2は、電気泳動チップへの電極装着方法を示す説明

図である。

#### 【0019】

図1に示すように、本実施の形態の電気泳動チップは、基板11の表面に疎水性領域12と親水性領域13を形成し、親水性領域13の上に電気泳動ゲル（電気泳動路）14を形成する。親水性領域13は疎水性領域12に囲まれて細長い線状に形成される。親水性領域13は、幅2mm、長さ8cmとした。親水性領域13の幅は0.1mmから5mmの範囲、長さは5mmから10cm程度が作製しやすいが、30cmの長泳動路を形成することも可能である。一般に、DNAを長さの5%の分離能で測定するには泳動長は5cmもあればよい。DNAシーケンシングの場合は、少なくとも700ベースを1塩基分離する必要がある、これには30cm程度の電気泳動長を必要とするが、電気泳動に長時間を要するので、本発明のような作製法を用いた電気泳動チップではゲルの乾燥の問題から適当ではない。この電気泳動チップは、電気泳動長が10cm以下でDNA断片長を測定するアガロース電気泳動のように、DNA断片長を簡便に測定する目的で使用すると好適である。

#### 【0020】

親水性領域13と疎水性領域12の形成方法には多くの方法があるが、ここでは、テフロン系のインクを用いて基板11の表面を一旦全て疎水性とし、親水性領域13は、親水性領域を形成すべき部分にポリマーをコーティングした後、UV照射して親水性とする方法を採用した。親水性領域13の幅は2mmとした。電気泳動ゲル14の形成に当たっては、溶融したアガロース粉を0.8%（重量／体積）になるように0.5mMのEDTAを含む20mMトリス酢酸緩衝液pH8.0（以後0.5×TAE緩衝液）に加え、90℃で加熱融解したものを基板11表面の親水性領域13に塗布した。過剰のアガロース溶液を除去した後、室温に放置すると、2～5分間程度で親水性領域13にアガロースゲルが形成される。

#### 【0021】

ここでは泳動媒体としてアガロースゲルを用いたが、ポリアクリルアミドゲル

アクリルアミドモノマー ( $T=7\%$ ,  $C=5\%$ ) 10 ml に重合開始剤として 10% 過硫酸アンモニウム 0.05 ml と TEMED 4 マイクロリットルを含むゲル前駆体溶液を滴下する。すると、前駆体溶液は親水性領域に付着する。その後、直ちに窒素ガスを充満した湿潤箱に入れ、30 分間重合させると、基板の親水性領域上にポリアクリルアミドゲルが形成される。

## 【0022】

次に、電気泳動を行うための電極を装着する。ここでは、取り外し可能な構造の電極について説明する。図 2 (a) は電極装着前の電気泳動チップの状態図、図 2 (b) は電極装着後の電気泳動チップの状態図である。電極 21 a, 21 b は、ガラスやシリコン基板等からなる電極保持デバイス 22 a, 22 b の表面にクロムを蒸着した後に、白金蒸着膜 23 a, 23 b を 30 nm 以上の厚さに形成したものである。白金蒸着膜 23 a, 23 b の厚さが薄いと電気泳動中に電極が劣化するので注意を要する。あるいは、電極保持デバイス 22 a, 22 b 上に白金板や白金線を貼り付けて電極 21 a, 21 b を形成してもよい。白金蒸着膜 23 a, 23 b の一部に、電極液を染み込ませたスポンジ 24 a, 24 b を取り付ける。電極液としては、一般的な電気泳動用の緩衝液を用いることができる。すなわち、アガロースゲルの場合には、 $0.5 \sim 1 \times TE$  緩衝液、アクリルアミドゲルの場合には、 $0.5 \sim 1 \times TBE$  緩衝液を用いることができる。試料は、一方の電極 21 a の端部に保持されている。図示の例では、予めアガロースゲル中に試料を包摂させたゲル断片 25 を、電極液を染み込ませたスポンジ 24 a に接触させて電極 21 a の下面に配置している。

## 【0023】

料に近い側の電極 2 1 a を負極、試料から遠い側の電極 2 1 b を正極として電圧を印加すると、ゲル断片 2 5 に保持されている試料は泳動媒体である電気泳動ゲル 1 4 に移動し、その物理的性質により分離される。

#### 【 0 0 2 4 】

##### 〔実施の形態 2〕

図 3 は、本発明による電気泳動チップの他の構成例を説明する図である。図 3 (a) は平面図、図 3 (b) はその A A' 断面図である。

本実施の形態の電気泳動チップは、試料溶液を受け入れる間隙 3 5 が電気泳動ゲル（電気泳動路）3 4 の一部に形成されている点で、実施の形態 1 の電気泳動チップと異なる。間隙 3 5 は親水性領域 3 3 の上に形成されており、その周りは疎水性領域 3 2 である。このため、間隙 3 5 に試料溶液を滴下すると、試料溶液は電気泳動ゲル 3 4 中に形成された間隙 3 5 に保持される。

#### 【 0 0 2 5 】

例えば、幅 2 mm、長さ 3 0 mm の親水性領域 3 3 上に、その一端から 1 0 mm の位置に長さ 0. 5 mm の間隙を設ける形で 0. 5 % アガロースゲルを形成すると、中央の厚みが 1. 5 mm のゲルが形成される。間隙 3 5 は、予め厚み 0. 5 mm のポリスチレンフィルムを端部が基板 3 1 に接する形で設置し、ゲルを形成した後にフィルムを除去することで形成することができる。電気泳動ゲル 3 4 の両端に、例えば図 2 に示したような構造を有する電極を設置し、1 0 0 ~ 2 0 0 V / c m の電界強度で電気泳動することにより、間隙 3 5 に添加した試料溶液中の荷電試料はゲル 3 4 に移動し分離される。

#### 【 0 0 2 6 】

実際に、試料としてスルホローダミン 1 0 1 蛍光標識プライマーと未標識プライマーを用いて 1 0 3 0 塩基からなると予想される P C R 産物を作成した。この試料溶液を、本実施の形態の電気泳動チップの試料保持用間隙 3 5 に供給し、電気泳動ゲル 3 4 の試料保持用間隙 3 5 に近い側の端部に負極を、遠い側の端部に正極を装着し、1 0 0 V / c m の電界強度で電気泳動した。試料保持用間隙 3 5 から遠い側の電気泳動ゲル末端から 1 0 mm の位置に H e - N e ( 5 9 4 n m ) レーザから励起光を照射し、分光器で 6 1 5 n m ~ 6 2 5 n m の蛍光の変化を、



時間を追って測定した結果を図4に示す。図4から、本実施の形態の電気泳動チップを用いて3分間程度で分析が完了できることがわかる。ピーク41が1030塩基のPCR産物と予想され、ピーク42はおそらく未反応の蛍光標識プライマーと思われる。

## 【0027】

## 〔実施の形態3〕

図5は、本発明による電気泳動チップの別の構成例を説明する図であり、図5(a)は平面図、図5(b)はそのAA'断面図である。

本実施の形態の電気泳動チップは、基板51の表面に疎水性領域52と親水性領域53を形成し、親水性領域53上に電気泳動ゲル54が形成されている。電気泳動ゲル（電気泳動路）54には、試料溶液を受け入れる試料用ウェル55と、電気泳動用緩衝液を受け入れる緩衝液用ウェル56a、56bが形成されている。基板51上には白金電極57a、57bが形成されており、緩衝液用ウェル56a、56bは白金電極57a、57bの上に、白金電極57a、57bがウェル底部に露出するようにして形成されている。試料用ウェル55は、2つの緩衝液用ウェル56a、56bの間に、一方の緩衝液用ウェル56aの方に接近した位置に形成されている。

## 【0028】

試料用ウェル55及び緩衝液用ウェル56a、56bを有する電気泳動ゲル51は、例えば、幅5mm、長さ100mmの親水性領域53とその両端に連続する幅5mmの白金電極57a、57b上に、その端部から5mmの位置に断面2×5mmの細いピンを2本立て、一端から10mmの位置に断面2×1mmの細いピンを立てた状態でゲルを形成し、その後ピンを抜き去ることで形成することができる。ピンは、例えばステンレス製とすることができる。

## 【0029】

緩衝液用ウェル56a、56bに電気泳動用の緩衝液を保持し、試料ウェル55に試料を1マイクロリットル添加した後、電気泳動チップ全体を容器58に満たした疎水性のミネラルオイル59に浸漬する。この例では、緩衝液用ウェル56a、56bに保持されている緩衝液や試料ウェル55に保持されている試料溶

液が、電気泳動ゲル 5 4 に形成されたウェルと疎水性溶液 5 9 で立体的に区切られる空間内部に配置されるので、試料溶液や緩衝液の蒸発乾燥を防止できる。緩衝液用ウェル 5 6 a, 5 6 b 内の緩衝液は pH を一定に保つ電極液の作用をする。

#### 【 0 0 3 0 】

電気泳動ゲル 5 4 の両端部に設置してある白金電極 5 7 a, 5 7 b にリード線を接触させて実施の形態 2 と同様に試料成分の電気泳動分離を行うことができる。ここでは、緩衝液より比重の軽いミネラルオイルをゲルや試料に含まれる水分の蒸発防止に用いたが、緩衝液より比重の重いフルオロカーボン類を蒸発防止に用いる場合は、電気泳動チップを図 5 の場合と上下逆さにし、電気泳動ゲル面を下にして乾燥防止液 5 9 に浸せばよい。ここで使用できる乾燥防止液に必要な要件は、非電気伝導性で脱水性がないことである。

#### 【 0 0 3 1 】

##### 〔実施の形態 4〕

図 6 は、本発明による電気泳動チップの他の構成例を説明する図であり、図 6 (a) は平面図、図 6 (b) はその A A' 断面図である。

本実施の形態の電気泳動チップは、図 3 にて説明した電気泳動チップと比較して、試料保持用間隙を有する電気泳動ゲルの構造は同じであるが、電極部の構造が異なる。基板 6 1 の表面には、疎水性領域 6 2 と親水性領域 6 3、電極 6 7 a, 6 7 b が予め形成されている。電極 6 7 a, 6 7 b は白金薄膜からなり、実質的に親水性である。細長い線状の親水性領域 6 3 と電極 6 7 a, 6 7 b は、疎水性領域 6 2 により取り囲まれている。即ち、親水性領域以外の領域は疎水性領域である。

#### 【 0 0 3 2 】

この電気泳動チップは以下のようにして作製した。予め、電極 6 7 a, 6 7 b の表面と間隙 6 5 に相当する部分をポリイミドテープによってテーピングしておき、親水性領域 6 3 に、アクリルアミドモノマー (T = 7 %, C = 5 %) と、重合開始剤として過硫酸アンモニウムと TEMED を含むゲル前駆体溶液とを滴下する。すると、前駆体溶液は親水性領域 6 3 に付着する。その後、基板 6 1 を直

ちに窒素ガスを充満した箱に入れ、30分間重合させる。重合後、テープをはがす。この一連の操作で、基板表面の親水性領域63にポリアクリルアミドゲル64が間隙65で分断されて形成される。この状態で電気泳動チップ全体を、3%グリセリンを含む溶液でリンスし、乾燥させ保存することができる。使用時には、1×TBEで5分間リンスすることで使用できるようになる。

## 【0033】

以上の説明では、電気泳動媒体としてポリアクリルアミドゲルを用いたが、アガロースゲルを用いても同様な電気泳動チップを作製することができる。電極67a, 67bにリード線69a, 69bを設置し、電極とリード線の接触部に電極液(1×TBE)68a, 68bを10マイクロリットル添加する。図6(b)は、電極液68a, 68bが電極67a, 67b上に保持された状態を示している。電極液は、pHを一定に保つ作用をする。このような電極構造を採用することで電極の取り付けが容易となり、操作がしやすくなるとともに、確実に、電界をかけることが可能となる。また、電極液により、電極近傍のpH変化を最小に押える事ができるようになる。長時間電気泳動を行う場合は、電極液を途中で交換したり追加したりすることもできる。

## 【0034】

図7は、図6に示す電気泳動チップに試料を供給し、保持させる方法を説明する斜視図である。まず、図7(a)に示すように、先端が親水性で側面が疎水性である直径0.4mmのニードル71の先端に試料液滴72を付着させる。この時、液滴72の体積は約500nLである。液滴72を基板61の疎水性領域62に接触させながら親水性領域である間隙65を通過するように矢印75の方向に移動させる。間隙65の間隔は約0.5mmである。

## 【0035】

ニードル71の先端が間隙65を通過する時、ニードル71の先端に付着していた液滴72は、図7(b)に示すように、電気泳動ゲル64の間隙65を埋める形で捕捉されて電気泳動ゲル64を連結する。こうして微量の試料を電気泳動ゲル64の間隙65に供給し、保持させることができる。リード線69a, 69bを介して電極67a, 67bに電界を印加すると泳動が始まり、試料溶液中の

荷電物質は移動を開始する。電極液 6 8 a, 6 8 b は、リード線 6 9 a, 6 9 b と電極 6 7 a, 6 7 b を低抵抗で接続させる役割を果たす。

以下に、本実施の形態の電気泳動チップを用いた具体的な測定例を示す。ここでは、未知 DNA の制限酵素断片を作製し、ポリアクリルアミドゲルを用いて測定した結果について述べる。

#### 【 0 0 3 6 】

次のようにして試料調製を行った。モデル試料として約 2. 1 k 塩基のヒト由来未知配列 DNA クローンを制限酵素で切断して、3' 末端にアダプター配列を結合した DNA 断片混合物を用意した。この 2. 1 k b の DNA を制限酵素 Hsp92II で切断し、3' 両末端に既知配列アダプターを DNA リガーゼで連結した。すなわち 4 0 0 f m o l の切断 DNA を 1 0 m M M g C l <sub>2</sub>、1 5 m M K C l を含む 1 0 m M T r i s - H C l (p H 7. 4) 溶液に溶解し、4 0 ユニットの Hsp92II (Promega, UK) を加え 3 7 °C で 2 時間反応させて完全に切断した。エタノール沈殿で DNA を回収した後、アルカリホスファターゼで 5' 末端のリン酸基を除去した。蛍光体スルホローダミン 1 0 1 (SR101) で 3' 末端を標識したアダプター 5' -pACTGGCCGTCGTTT-SR101-3' (2 0 p m o l) とヘルパーオリゴマー 5' -AAACGACGGCCAGTCATGp-3' (2 0 p m o l) を 4 0 0 f m o l の切断 DNA 断片混合物に添加し 4 0 マイクロリットルとし、ライゲーションハイ (TOYOBO) 2 0 マイクロリットルを添加し、1 6 °C で 1 時間ライゲーション反応を行った。これにより、各 DNA 断片の 3' 末端にのみアダプター配列 ACTGGCCGTCGTTT-SR101 が導入され、同時に蛍光体スルホローダミン 1 0 1 で各断片が標識される。ライゲーション反応は DNA の 5' 末端のリン酸基と 3' 末端の O H との間を連結する反応である。ここで示した方法は、ヘルパーオリゴマーの 5' 末端はリン酸基で修飾されているため、アダプター同士のライゲーションが抑えられる上、DNA 断片の 5' 末端のリン酸基を除去してあるため DNA 断片間の再結合を防止することができる。このため確実にアダプターを導入することができた。

#### 【 0 0 3 7 】

本実施の形態の電気泳動チップによる DNA 断片の検出は、次のようにして行った。図 7 で説明した方法により、試料溶液 1 マイクロリットルを電気泳動チッ

ブの試料保持用間隙 6 5 に保持させた。図 6 に示す電極 6 7 b を正極、電極 6 7 a を負極として、 $20\text{ V/cm}$  の電界を 10 秒間印加してサンプル DNA をゲル中に移動させた。次に、電界を  $100\text{ V/cm}$  に上げ、さらに電気泳動を続けた。試料保持用間隙 6 5 から遠いほうの電気泳動ゲル端面から  $1\text{ cm}$  の位置に、 $594\text{ nm}$  の He-Ne レーザから発生された励起光を照射し続け、蛍光をモニターした。発する蛍光を、 $615\text{ nm}\sim 625\text{ nm}$  の光を回折格子で分光し、高感度冷却 CCD カメラで計測した。その結果、図 8 に示すような電気泳動バンドが得られた。横軸の DNA 長は予めアプライドバイオシステムズ社のジーンスキャン ロックス 500 をマーカーとして同一泳動条件で計測して求めた値を採用している。50 塩基長あたりの大きな電気泳動分離バンドは未反応のプライマーを表す。その他のバンド塩基長の合計は約 2000 塩基となり、試料 DNA の長さ約 2.1 k 塩基と一致する。

## 【0038】

## 〔実施の形態 5〕

図 9 は、本発明による電気泳動チップの更に他の構成例を説明する図であり、図 9 (a) は平面図、図 9 (b) はその AA' 断面図である。

本実施の形態の電気泳動チップは、基板 9 1 上に複数の細長い線状の親水性領域 9 3 がほぼ平行に形成され、これら親水性領域 9 3 の上に電気泳動ゲル 9 4 が形成される。親水性領域 9 3 の周囲は疎水性領域 9 2 である。親水性領域 9 3 の間隔は  $4.5\text{ mm}$  とした。親水性領域の長さは  $50\text{ mm}$ 、幅は  $1\text{ mm}$  で、端から  $10\text{ mm}$  の位置に試料溶液添加用の間隙 9 5 が形成される部位を有する。各親水性領域 9 3 の両端部には、負極 9 7 a、正極 9 7 b からなる電極がそれぞれ形成される。負極 9 7 a は全ての親水性領域に共通であり、正極 9 7 b も全ての親水性領域に共通である。電極 9 7 a、9 7 b には pH を一定に保つために、電解液 9 8 a、9 8 b が添加されている。試料溶液添加用の間隙 9 5 は、図 6、図 7 にて説明したのと同様な構造をしている。

## 【0039】

実際の電気泳動ゲルの作製方法をアガロースゲルの例で示す。アガロースを 0.5% TAE 緩衝液に添加し、電子レンジで加熱溶解させ、0.5% 溶液とする

。60℃に冷却し、同じく60℃に加温した基板91の表面に溶解アガロース溶液を滴下する。その後、直ちにガラス板を立てて過剰のアガロース溶液を除去する。この操作で、疎水性領域92からはアガロース溶液が除去されるが、親水性領域93にはアガロース溶液が残る。もちろん試料保持用間隙95に対応する部分と電極97a, 97bは、テープでマスキングしてアガロースが付着しないようにしてある。湿潤箱の中に入れ、で室温で15分間冷却すると電気泳動ゲル94が形成される。最後にマスキングを剥がすと、電気泳動ゲル94に間隙95が形成され、電極97a, 97bが露出する。

## 【0040】

図10及び図11は、図9に示した電気泳動チップに試料を供給する方法の一例を示す斜視図である。サンプル溶液保持用のニードル102はステージ101に電気泳動路の数だけ取り付けられている。隣接するニードル102の間隔は、例えば96穴のマイクロプレートの穴のピッチと同一である。ニードル間のピッチと複数の電気泳動ゲル94間のピッチは9mmあるいは4.5mmで同一である。試料溶液は図11に図示した96穴マイクロプレート112あるいは384穴タイプのマイクロプレートで供給する。ここでは96穴マイクロプレートを用いる系で説明する。

## 【0041】

ニードル102を固定したステージ101は、x軸方向とこれと垂直のz軸方向に移動させるための駆動装置110に取り付けられている。駆動装置110は、ステッピングモータを駆動源としており、制御装置111によって制御される。まず、制御装置111からの信号で駆動装置110をz軸方向にマイクロプレートに近づく方向に動かし、ニードルアレーをマイクロプレート112の連続する穴113に浸漬して試料溶液を各ニードル102の先端に付着させる。ニードル102は、先端を親水性とし、ニードル側面を疎水性とすることで、表面張力が一定であればニードル先端に一定量の液を保持することができる。より精密な液量を分析する必要とする場合には、ニードルの代わりに例えば内径が50μm、外形が200μmのキャピラリーで試料溶液を吸い込み、一定量を分注すればよい。次に、制御装置111からの信号で駆動装置110をz軸方向に動かし

、マイクロプレート 1 1 2 から遠ざける。続けて、x 軸方向に動かして、ニードルを基板 6 1 の上に移動させる。制御装置 1 1 1 からの信号で駆動装置 1 1 0 を z 軸方向に動かし、ニードル 1 0 2 の先端に付着した液滴 1 0 3 を基板 9 1 の疎水性領域 9 2 に接触させる。

#### 【0 0 4 2】

続いて、図 7 により説明したのと同様にして、先端に試料液滴 1 0 3 を付着したニードル（先端直径 0. 2 mm）1 0 2 を、制御装置 1 1 1 からの信号で駆動装置 1 1 0 を動かし、液滴 1 0 3 を基板 9 1 の疎水性領域 9 2 に接触させながら親水性領域 9 3 であるギャップ 9 5 を通過するように矢印 1 0 5 の方向に移動させる。ギャップ 9 5 の間隔は約 0. 3 mm である。ニードル 1 0 2 の先端がギャップ 9 5 を通過する時、ニードル 1 0 2 の先端に付着している液滴 1 0 3 は、電気泳動ゲル 9 4 の間隙 9 5 を埋める形で間隙 9 5 に捕捉され、図 1 0（b）に示すように、間隙 9 5 によって分離していた電気泳動ゲル 9 4 を連結する。

#### 【0 0 4 3】

その後、電極 9 7 a を負極、電極 9 7 b を正極として電極間に電界を印加すると泳動が始まり、試料溶液中の荷電物質は移動を開始する。1 0 0 ~ 2 0 0 V / c m の電界強度で電気泳動することにより、間隙 9 5 に添加した試料溶液中の荷電試料は電気泳動ゲル 9 4 に移動し分離される。

#### 【0 0 4 4】

電気泳動ゲル 9 4 や電極液 9 8 a に蛍光性インターカレーターであるエチジウムホモダイマー等を添加しておくことで、泳動中に 2 本鎖試料 DNA にエチジウムホモダイマーがインターカレートする。Y A G レーザ等からのレーザ光を、試料保持用間隙 9 5 から離れた電気泳動ゲル末端から 1 0 mm の位置に照射し、2 本鎖 DNA の電気泳動分離バンドからの蛍光信号を経時的に追跡することで電気泳動パターンを得ることが出来る。

#### 【0 0 4 5】

#### 〔実施の形態 6〕

図 1 2 は、本発明による電気泳動チップの他の構成例を説明する図であり、図 1 2（a）は平面図、図 1 2（b）はその A A' 断面図である。

実施の形態 5 の電気泳動チップでは、各親水性領域毎に対応して共通の電極が形成されていたが、本実施の形態の電気泳動チップでは、各親水性領域 1 2 3 に個別の電極（正極 1 2 7 b、負極 1 2 7 a）が形成されている。電極部以外の構成は実施の形態 5 と同様である。すなわち、本実施の形態の電気泳動チップは、基板 1 2 1 上に複数の細長い線状の親水性領域 1 2 3 が平行に形成され、これら親水性領域 1 2 3 の上に電気泳動ゲル 1 2 4 が形成される。親水性領域 1 2 3 の周囲は疎水性領域 1 2 2 である。また、電気泳動ゲル 1 2 4 には、負極 1 2 7 a に近い位置に試料溶液添加用の間隙 1 2 5 が形成されている。

## 【 0 0 4 6 】

本実施の形態の電気泳動チップは、各電気泳動路（電気泳動ゲル 1 2 4）への印加電圧を個別に制御できる利点がある。すなわち、電気泳動ではレーン毎に電気泳動速度が若干ずつ異なるケースがある。これは、ゲル間の条件を完全に一致させることが難しいためである。多くの場合、ゲル断面積が若干ずつ異なり、このため低電圧電気泳動を行うと発生するジュール熱が異なり、試料 DNA の泳動速度がゲル毎に変化する。このような場合、予め試料を入れないで予備的電気泳動（プレラン）を行って各電気泳動レーンに流れる電流を測定しておき、各電気泳動レーンでの特定の DNA の電気泳動速度が一定になるようにレーン毎に電圧を設定してやればよい。あるいは、電気泳動試料溶液にマーカーとなる既知の DNA を添加しておき、この既知 DNA の電気泳動速度をモニターしながら、各レーン間で印加電圧を補正するようにしてもよい。

## 【 0 0 4 7 】

## 〔実施の形態 7〕

図 1 3 は、本発明による電気泳動チップの他の構成例を説明する図であり、図 1 3 (a) は電気泳動チップの中央を基板に平行な平面で切った断面図、図 1 3 (b) は電気泳動チップの基板に垂直な断面図である。図 1 3 (a) は図 1 3 (b) の B B' 断面図に相当する。

## 【 0 0 4 8 】

この電気泳動チップでは、2 枚の基板の表面に形成された親水性領域の間に電気泳動ゲルを形成する。即ち、対向する 2 枚の基板 1 3 1 a、1 3 1 b の対向す



る面にそれぞれ面対称となるように細長い線状の親水性領域 1 3 3 a, 1 3 3 b と疎水性領域 1 3 2 a, 1 3 2 b (疎水性領域 1 3 2 b は基板 1 3 1 b にあり、図示せず) を交互に複数形成し、所定の間隔だけほぼ平行に隔てて配置される 2 枚の基板の対向する親水性領域 1 3 3 a, 1 3 3 b の間に泳動媒体 (電気泳動路 1 3 4) を保持する。この電気泳動チップによると、2 枚の対向する基板の間に、電気泳動ゲル 1 3 4、空間 (2 つの基板の疎水性領域同士が対向している空間)、電気泳動ゲル、空間、…の繰り返しが形成され、電気泳動ゲル 1 3 4 が大気に露出する面積を減少させることができ、電気泳動ゲルの乾燥防止に有効である。

## 【 0 0 4 9 】

この電気泳動チップは、予めスペーサを介して一定間隔で配置した基板 1 3 1 a, 1 3 1 b の隙間にゲル前駆体溶液を添加し、過剰の液を除去することにより作製することが出来る。あるいは、片方の基板 1 3 1 a にゲル前駆体液を滴下し、親水性領域 1 3 3 a のみにゲル前駆体液を保持した状態で、対向するもう一方の基板 1 3 1 b をスペーサを介して乗せるだけで、自動的に両基板 1 3 1 a, 1 3 1 b の親水性領域 1 3 3 a, 1 3 3 b に挟まれた部分に電気泳動路が形成される。ちなみに、後者の作製方法を採用すると、スペーサの厚みが 0. 0 5 ~ 0. 1 mm の箔層電気泳動路を形成することができる。使い方としては、一方の試料溶液保持兼電極液保持用スリット 1 3 7 a に試料溶液を添加し、白金電極を差し込む。他方の電極液保持スリット 1 3 7 b には電極液を満たし、スリット 1 3 7 a が負極、スリット 1 3 7 b が正極になるようにして電界を印加する。1 0 秒間電界を印加した後、スリット 1 3 7 a, 1 3 7 b に新たな電極液を補充する。電極液の補充は、電極液を染み込ませた多孔質スポンジを接触させればよい。その後は、他の実施の形態で説明したのと同様にして電気泳動分離バンド検出することが出来る。本実施の形態の電気泳動チップは、厚みが一定のゲルを作ることが出来る利点がある。また、2 面が基板で被われているので、電気泳動中の乾燥防止が容易となる。

## 【 0 0 5 0 】

本実施の形態の電気泳動チップは、電気泳動ゲル 1 3 4 の上下が基板 1 3 1 a

、131bで挟まれているため。電極の配置は他の実施の形態と異なるものとなる。図14は、本実施の形態における電極の配置を説明する図である。最初、図14(a)に示すように、試料溶液を間隙137bに毛管現象で添加した後、陰極用の電極141を間隙137bに差し込む。陽極側は、間隙137aに緩衝液を満たした後、緩衝液を染み込ませた多孔質プラスチックやろ紙からなる緩衝液保持担体142を接触させ、さらに緩衝液保持担体142の外部から陽極143を接触させる。たとえば80Vで10秒間陽極143と陰極141の間に電界をかけ、試料溶液中のDNAを電気泳動ゲル134に導入する。次に、いったん陰極141を電気泳動チップよりはずし、図14(b)に示すように、緩衝液を染み込ませた緩衝液保持担体143を間隙137bに挿入する。このとき、間隙137bの緩衝液が少なくなっているときは補充する。緩衝液を染み込ませた緩衝液保持担体143の外側に陰極144を接触させ、電極143、144間に1000Vの電圧を印加して電気泳動を続行する。電気泳動チップの両端に緩衝液を染み込ませた緩衝液保持担体142、143を使用するのは、十分な緩衝液を確保し、溶液の電気分解による電極近傍のpH変動を抑えるためである。

【0051】

#### 〔実施の形態8〕

これまでは、電気泳動チップの構造あるいはチップへの試料の添加方法について主に説明してきたが、ここで本実施の形態の電気泳動チップを用いた電気泳動装置の電気泳動部と検出部の詳細例について説明する。

図15及び図16は、図6に示した本発明の実施の形態4の電気泳動チップを組み込んだ電気泳動装置の構成例を示す概略図である。電気泳動チップは、図15に示すように、基板61を温度制御装置150の上に乗せて、チップ全体が湿潤箱151に収容されている。湿潤箱151には窓152が取り付けられており、試料供給用のニードルが試料保持用間隙65にアクセスできる構造となっている。湿潤箱151には加湿装置154が取り付けられている。電気泳動チップの電極67a、67bには電気泳動電源155が接続している。加湿装置154と電気泳動電源155及び温度制御装置150は制御装置156に接続されており、制御装置156により温湿度制御と電気泳動の制御が行われる。温度制御装置15

0の一部には貫通穴153が設けられており、蛍光検出用の励起レーザービームで電気泳動ゲル64中を照射できる構造となっている。

【0052】

図16は、電気泳動装置の光学検出部の概略を示す拡大図である。温度制御装置150に設けられた貫通穴153には、電気泳動チップの基板61の極近傍にレンズ161が配置され、電気泳動ゲル64に励起レーザー160から発せられたレーザービーム162の焦点163を結ぶようになっている。基板61に対して励起レーザービーム162を斜め方向から照射するのは、基板表面からの反射光が検出器に入射しないようにするためである。電気泳動ゲル64中を蛍光標識したDNAが移動し、励起レーザービーム162の焦点領域163に到達すると蛍光を発する。蛍光は全方位方向に放射されるが、レンズ161に入射した蛍光のみが、蛍光ビーム164として検出器165で検出される。

ここでは、代表例として図6に示した電気泳動チップを組み込んだ電気泳動装置の構成例について説明したが、本発明の他の実施形態で説明した電気泳動チップも同様の構造の電気泳動装置に組み込んで使用することができる。

【0053】

以下に、本発明の別の態様を列記する。

(1) 所定の幅と、第1の端部と第2の端部を結ぶ長手方向に第1の長さともち、泳動媒体が形成される第1の親水性領域と、前記所定の幅と、前記長手方向で第1の端部と第2の端部を結ぶ第2の長さともち、泳動媒体が形成される第2の親水性領域と、前記第1の親水性領域の前記第1の端部に接続して形成される負電極が形成される第1の領域と、前記第2の親水性領域の前記第1の端部に接続して形成される正電極が形成される第2の領域と、前記第1の親水性領域の前記第2の端部と前記第2の親水性領域の前記第2の端部とが前記長手方向で対向する間隙の領域に形成され、蛍光標識された試料を含む溶液の液滴が供給される第3の親水性領域と、前記第1の領域と前記第1の親水性領域と前記第3の親水性領域と前記第2の領域と前記第2の親水性領域とを取り囲む第1の疎水性領域とが電気絶縁性の基板の表面に形成され、前記第1の親水性領域に形成される前記泳動媒体、前記第3の親水性領域に供給される前記液滴、前記第2の親水性

領域に形成される前記泳動媒体により電気泳動路が形成される電気泳動チップを有することを特徴とする電気泳動装置。

## 【 0 0 5 4 】

(2) 泳動媒体が形成される細長い形状を有する第1の親水性領域と、前記泳動媒体が形成される細長い形状を有し、前記第1の親水性領域の長手方向に形成される第2の親水性領域と、前記第1の親水性領域の一方の端部と前記第2の親水性領域の一方の端部とが前記長手方向で対向する間隙の領域に形成され、試料を含む溶液の液滴が供給される第3の親水性領域と、前記第1の親水性領域と前記第3の親水性領域と前記第2の親水性領域とを取り囲む第1の疎水性領域とが電気絶縁性の基板の表面に形成され、前記第1の親水性領域に形成される前記泳動媒体、前記第3の親水性領域に供給される前記液滴、前記第2の親水性領域に形成される前記泳動媒体により電気泳動路が形成される電気泳動チップを有することを特徴とする電気泳動装置。

## 【 0 0 5 5 】

(3) 所定の幅と、第1の端部と第2の端部を結ぶ長手方向に第1の長さともち、泳動媒体が形成される第1の親水性領域と、前記所定の幅と、前記長手方向で第1の端部と第2の端部を結ぶ第2の長さともち、泳動媒体が形成される第2の親水性領域と、前記第1の親水性領域の前記第1の端部に接続して形成される負電極が形成される第1の領域と、前記第2の親水性領域の前記第1の端部に接続して形成される正電極が形成される第2の領域と、前記第1の親水性領域の前記第2の端部と前記第2の親水性領域の前記第2の端部とが前記長手方向で対向する間隙の領域に形成され、蛍光標識された試料を含む溶液の液滴が供給される第3の親水性領域と、前記第1の領域と前記第1の親水性領域と前記第3の親水性領域と前記第2の領域と前記第2の親水性領域とを取り囲む第1の疎水性領域とが電気絶縁性の基板の表面に形成され、前記第1の親水性領域に形成される前記泳動媒体、前記第3の親水性領域に供給される前記液滴、前記第2の親水性領域に形成される前記泳動媒体により電気泳動路が形成される電気泳動チップと、光源と、光検出器とを有し、前記正電極と前記負電極との間に電圧を印加して前記試料を電気泳動分離し、前記第2の領域に形成された前記電気泳動路の所定

の位置に、前記光源から放射される光を照射して、前記蛍光標識から発生する蛍光を前記光検出器により検出して電気泳動分離された前記試料を検出することを特徴とする電気泳動装置。

## 【 0 0 5 6 】

(4) 所定の幅と、第1の端部と第2の端部を結ぶ長手方向に第1の長さとをもち、泳動媒体が形成される第1の親水性領域と、前記所定の幅と、前記長手方向で第1の端部と第2の端部を結ぶ第2の長さとをもち、泳動媒体が形成される第2の親水性領域と、前記第1の親水性領域の前記第1の端部に接続して形成される負電極が形成される第1の領域と、前記第2の親水性領域の前記第1の端部に接続して形成される正電極が形成される第2の領域と、前記第1の親水性領域の前記第2の端部と前記第2の親水性領域の前記第2の端部とが前記長手方向で対向する間隙の領域に形成され、蛍光標識された試料を含む溶液の液滴が供給される第3の親水性領域と、前記第1の領域と前記第1の親水性領域と前記第3の親水性領域と前記第2の領域と前記第2の親水性領域とを取り囲む第1の疎水性領域とが電気絶縁性の基板の表面に形成され、前記第1の親水性領域に形成される前記泳動媒体、前記第3の親水性領域に供給される前記液滴、前記第2の親水性領域に形成される前記泳動媒体により電気泳動路が形成される電気泳動チップと、内部の温度及び湿度がほぼ一定に保持され、前記電気泳動チップが配置される恒温恒湿槽と、前記恒温恒湿槽の外部に配置される光源と、前記恒温恒湿槽の外部に配置される光検出器とを有し、前記正電極と前記負電極との間に電圧を印加して前記試料を電気泳動分離し、前記第2の領域に形成された前記電気泳動路の所定の位置に、前記光源から放射される光を照射して、前記蛍光標識から発生する蛍光を前記光検出器により検出して電気泳動分離された前記試料を検出することを特徴とする電気泳動装置。

## 【 0 0 5 7 】

(5) 所定の幅と、第1の端部と第2の端部を結ぶ長手方向に第1の長さとをもち、泳動媒体が形成される第1の親水性領域と、前記所定の幅と、前記長手方向で第1の端部と第2の端部を結ぶ第2の長さとをもち、泳動媒体が形成される第2の親水性領域と、前記第1の親水性領域の前記第1の端部に接続して形成され

る負電極が形成される第1の領域と、前記第2の親水性領域の前記第1の端部に接続して形成される正電極が形成される第2の領域と、前記第1の親水性領域の前記第2の端部と前記第2の親水性領域の前記第2の端部とが前記長手方向で対向する間隙の領域に形成され、蛍光標識された試料を含む溶液の液滴が供給される第3の親水性領域と、前記第1の領域と前記第1の親水性領域と前記第3の親水性領域と前記第2の領域と前記第2の親水性領域とを取り囲む第1の疎水性領域とが電気絶縁性の基板の表面に形成され、前記第1の親水性領域に形成される前記泳動媒体、前記第3の親水性領域に供給される前記液滴、前記第2の親水性領域に形成される前記泳動媒体により電気泳動路が形成される電気泳動チップと、絶縁性溶液を満たした恒温槽を有し、前記前記電気泳動チップの前記泳動媒体部分が前記絶縁性溶液に被われている構造の電気泳動装置。

【0058】

(6) ガラス基板の表面の所定の距離だけ隔てた位置に2つの電極を形成する工程と、前記2つの電極が形成された領域を除く前記ガラス基板の表面に疎水性膜を形成する工程と、前記2つの電極を結ぶ方向で所定の長さ区間を除いて前記疎水性膜を剥離して、前記2つの電極にそれぞれ接続する細長い形状をもつ2つの親水性膜を形成する工程と、前記2つの親水性膜に泳動媒体を形成する工程とを有することを特徴とする電気泳動チップの製造方法。

【0059】

(7) 線状の親水性領域と疎水性領域とが交互に複数形成された第1、第2の基板の前記複数の線状の親水性領域を対向させて、前記第1、第2の基板を所定の間隔だけ隔てて配置して、前記第1、第2の基板の対向する前記複数の線状の親水性領域の間に、泳動媒体が保持されることを特徴とする電気泳動チップ。

(8) 疎水性領域と、線状の親水性領域とが基板の表面に形成され、前記親水性領域の面に電気泳動用の緩衝液が保持され、前記緩衝液を疎水性溶液で覆うことを特徴とする電気泳動チップ。

【0060】

【発明の効果】

本発明によると、微量試料の添加が可能となり、電気泳動分離性能の再現性が

良い電気泳動チップを提供することができる。また、電気泳動チップを容易に再現性よく、大量に作製することが可能になる。

【図面の簡単な説明】

【図 1】

本発明による電気泳動チップの構成例を説明する図。

【図 2】

電気泳動チップへの電極装着方法を示す説明図。

【図 3】

本発明による電気泳動チップの他の構成例を説明する図。

【図 4】

電気泳動の測定例を示す図。

【図 5】

本発明による電気泳動チップの別の構成例を説明する図。

【図 6】

本発明による電気泳動チップの他の構成例を説明する図。

【図 7】

図 6 に示す電気泳動チップに試料を供給する方法を説明する斜視図。

【図 8】

電気泳動の測定例を示す図。

【図 9】

本発明による電気泳動チップの更に他の構成例を説明する図。

【図 1 0】

電気泳動チップに試料を供給する方法の一例を示す斜視図。

【図 1 1】

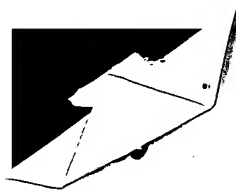
電気泳動チップに試料を供給する方法の一例を示す斜視図。

【図 1 2】

本発明による電気泳動チップの他の構成例を説明する図。

【図 1 3】

本発明による電気泳動チップの他の構成例を説明する図。



【図14】

電極の配置を説明する図。

【図15】

本発明の電気泳動チップを組み込んだ電気泳動装置の構成例を示す概略図。

【図16】

電気泳動装置の光学検出部の概略を示す拡大図。

【符号の説明】

- 11, 31, 51, 61, 91, 121, 131a, 131b…基板  
12, 32, 52, 62, 92, 122, 132a…疎水性領域  
13, 33, 53, 63, 93, 123, 133a, 133b…親水性領域  
14, 34, 54, 64, 94, 124, 134…電気泳動ゲル  
21a, 21b…電極  
25…試料を包摂させたゲル断片  
35, 65, 95, 125…間隙  
55…試料用ウェル  
56a, 56b…緩衝液用ウェル  
59…ミネラルオイル  
67a, 67b, 97a, 97b, 127a, 127b, 137a, 137b…  
電極  
68a, 68b, 98a, 98b…電極液  
69a, 69b…リード線  
71, 102…ニードル  
72…液滴  
110…駆動装置  
150…温度制御装置  
151…湿潤箱  
154…加湿装置  
155…電気泳動電源  
160…励起レーザ



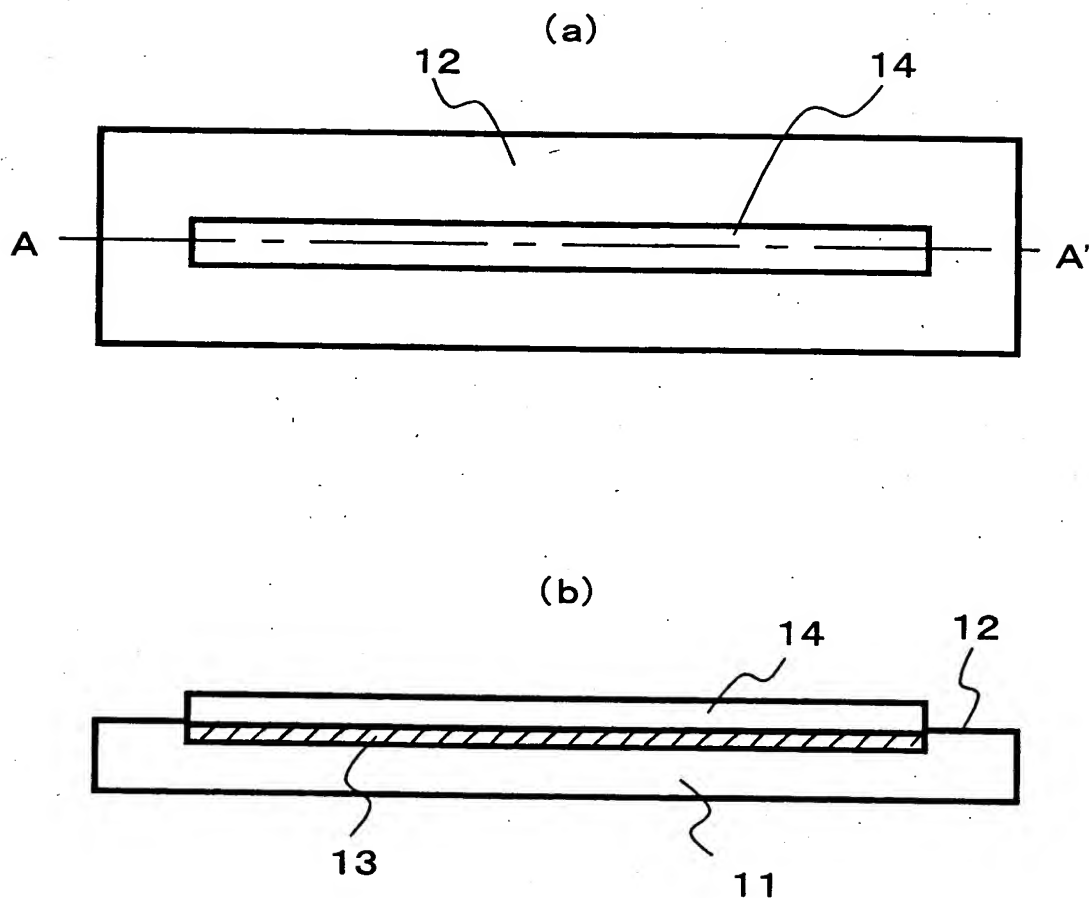
特 2 0 0 1 - 3 8 5 0 1 8

1 6 5 … 検出器

【書類名】 図面

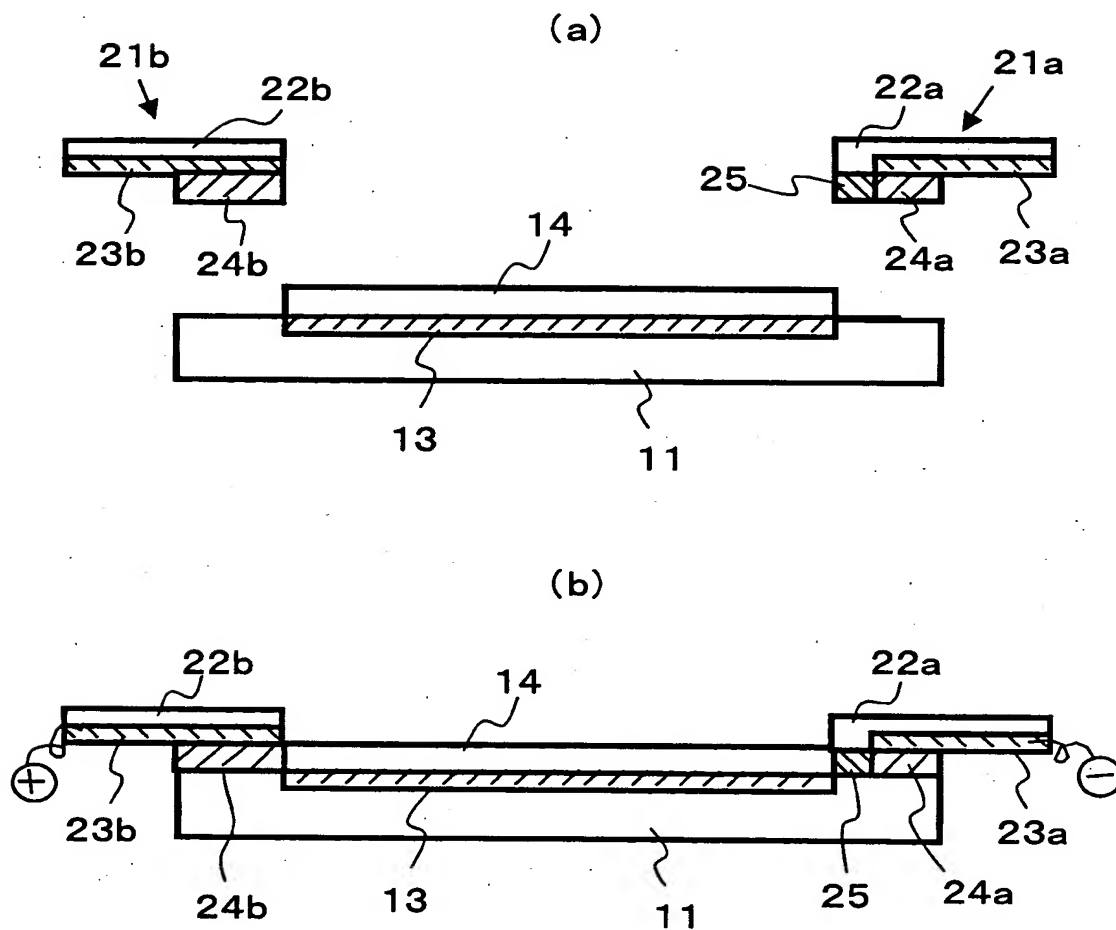
【図 1】

図 1



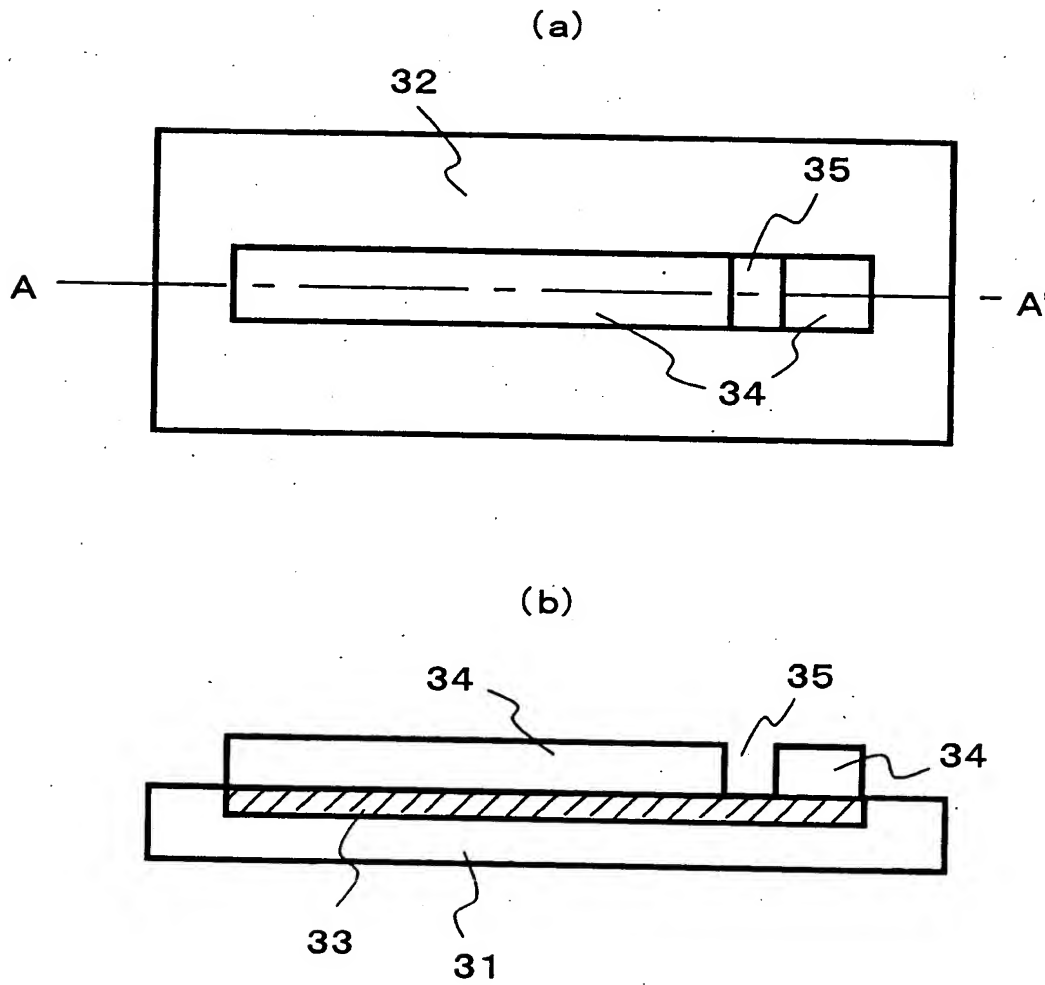
【図2】

図2



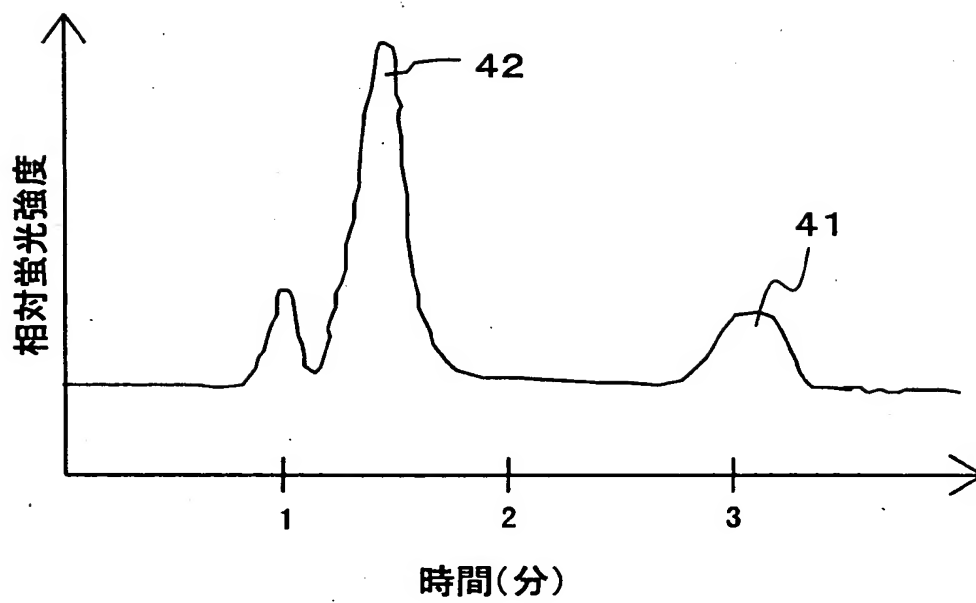
【図3】

図3



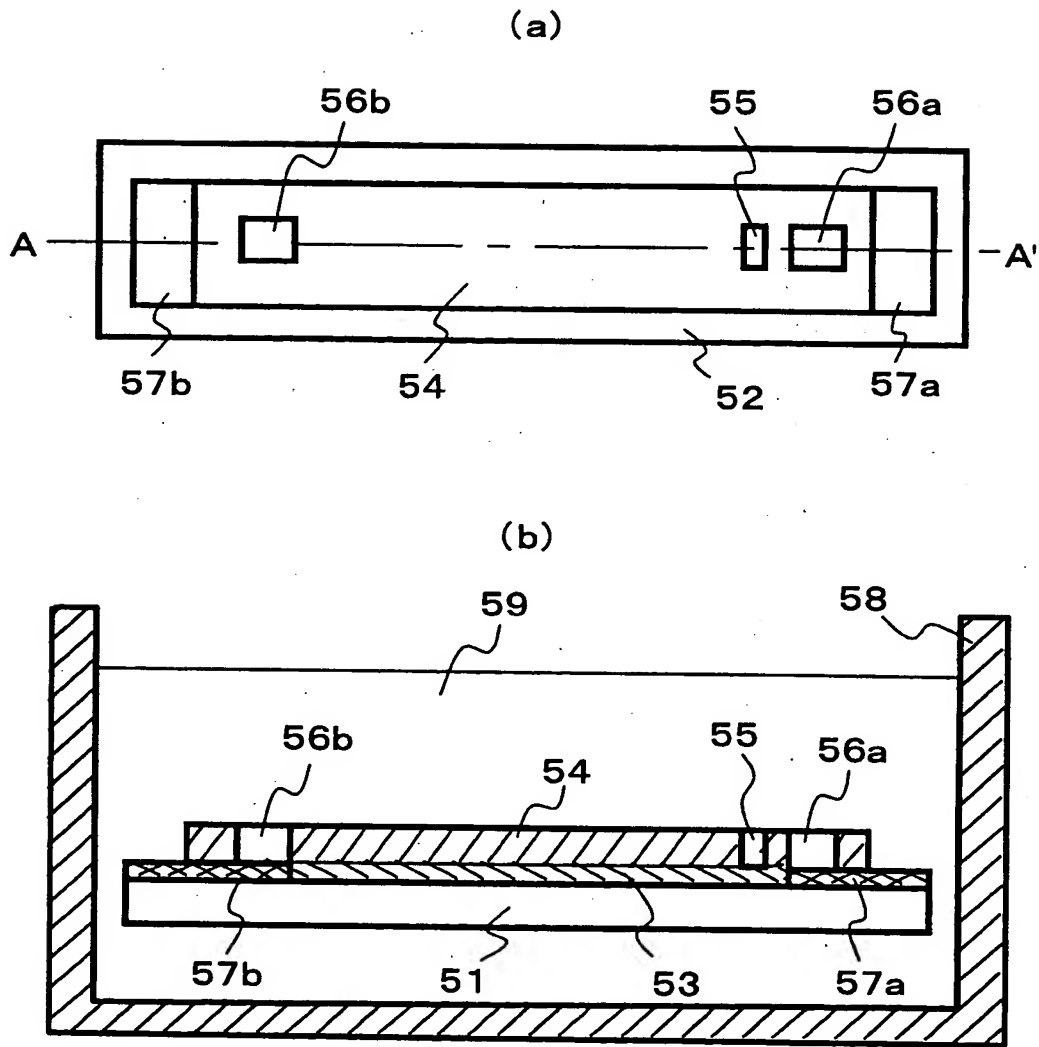
【図4】

図4



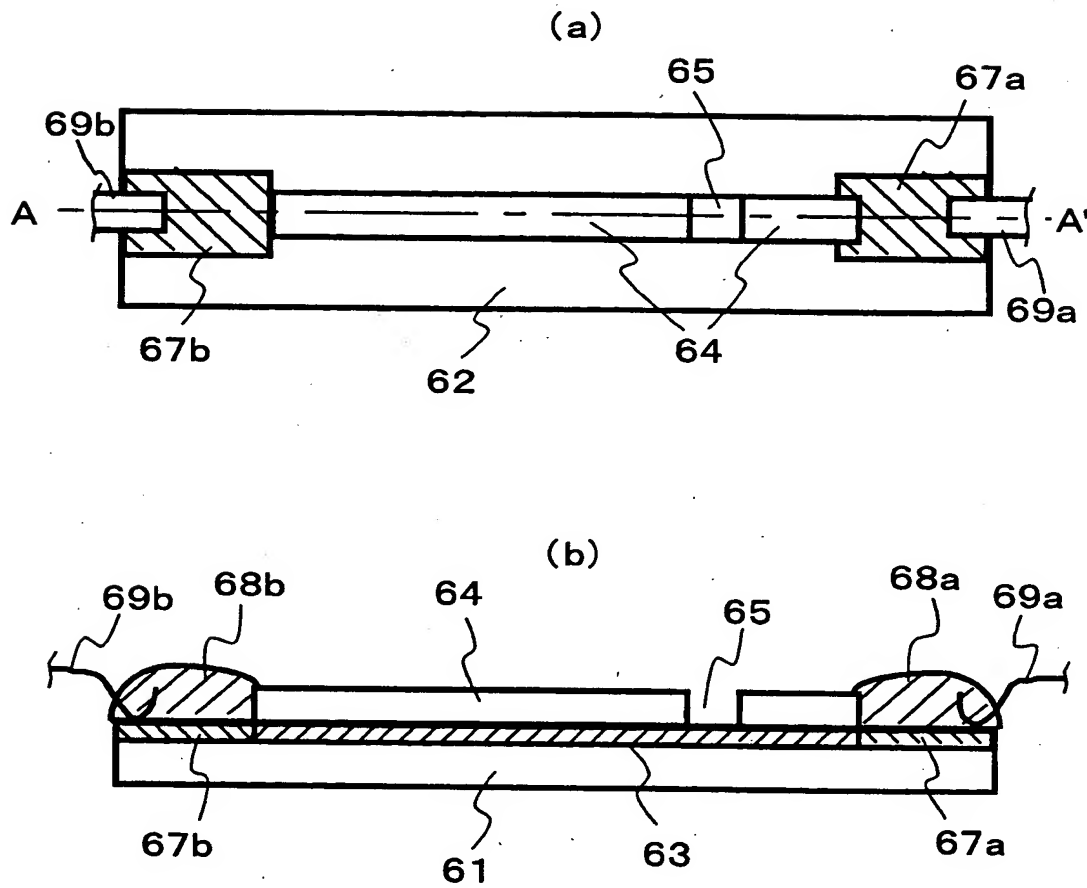
【図5】

図5



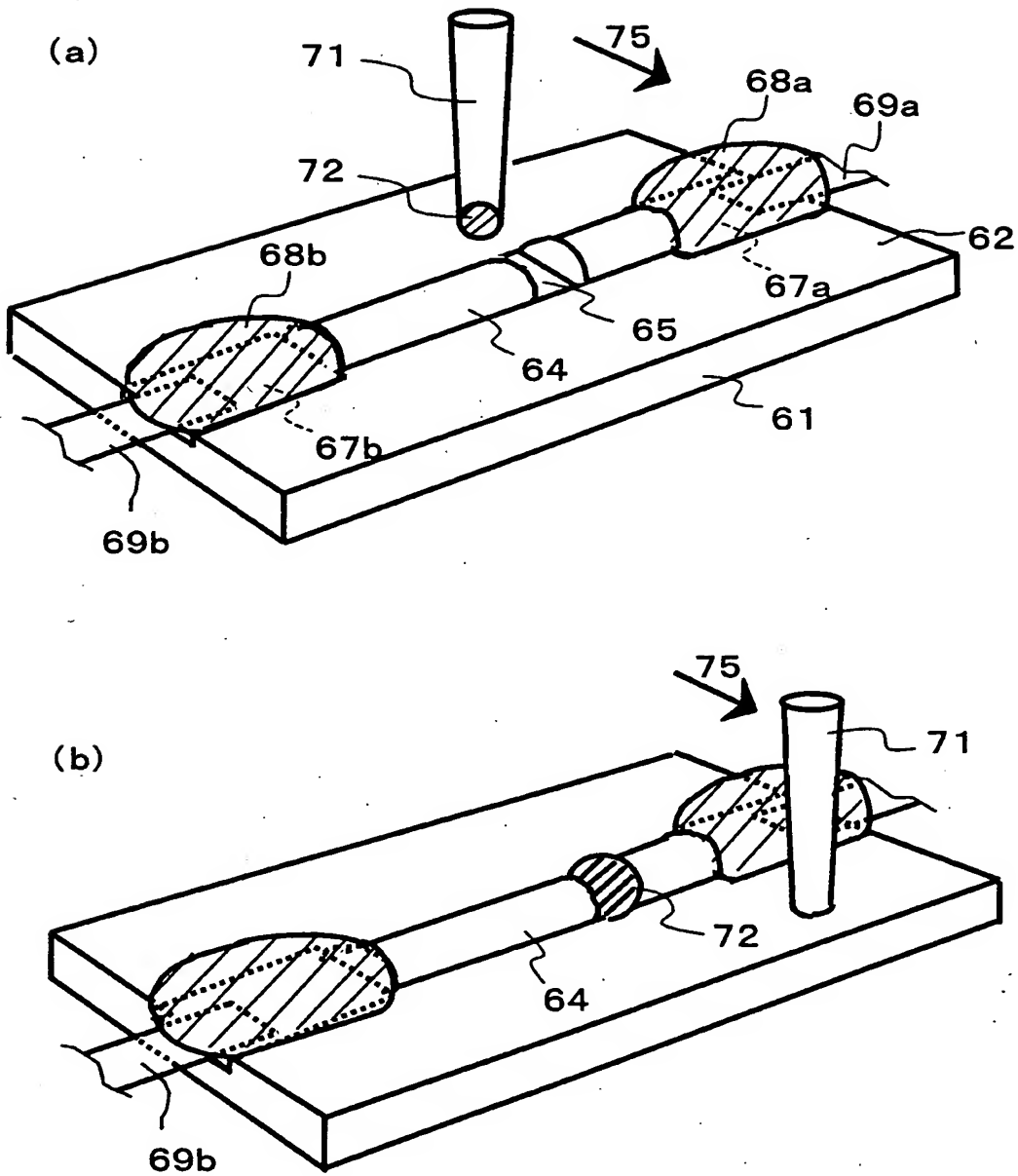
【図 6】

図6



【図7】

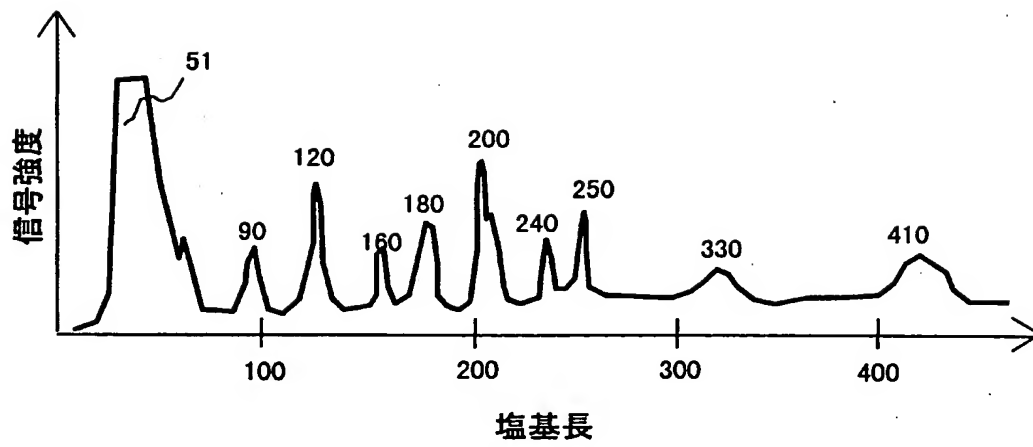
図7





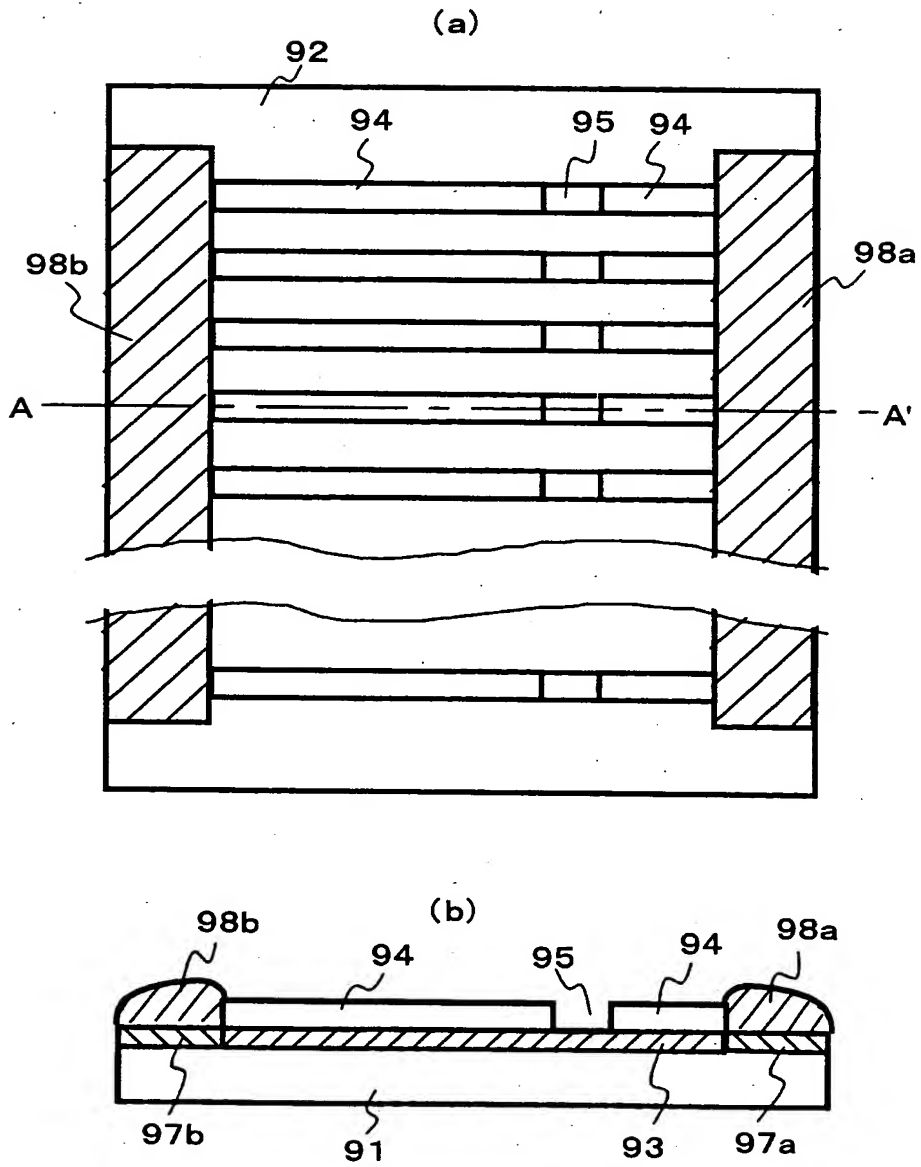
【図 8】

図 8



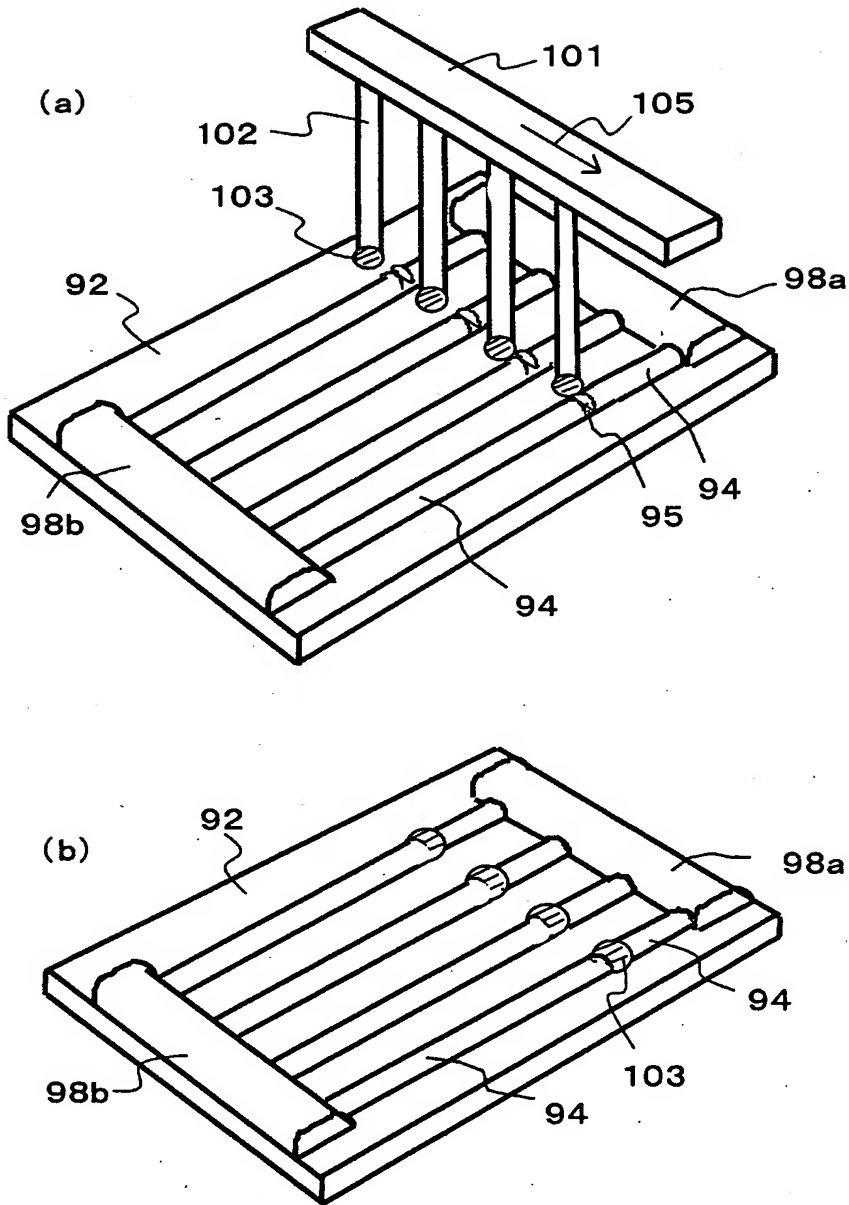
【図9】

図9



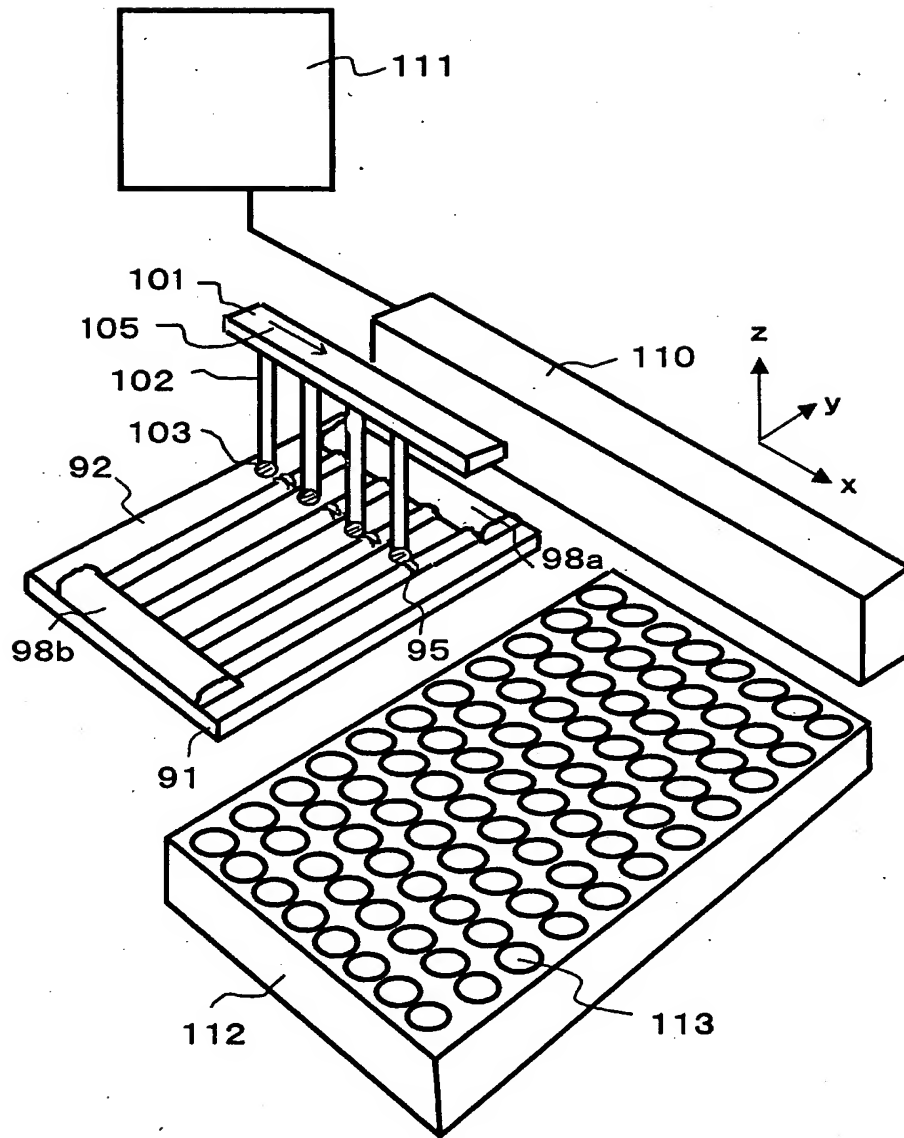
【図 1 0】

図 10



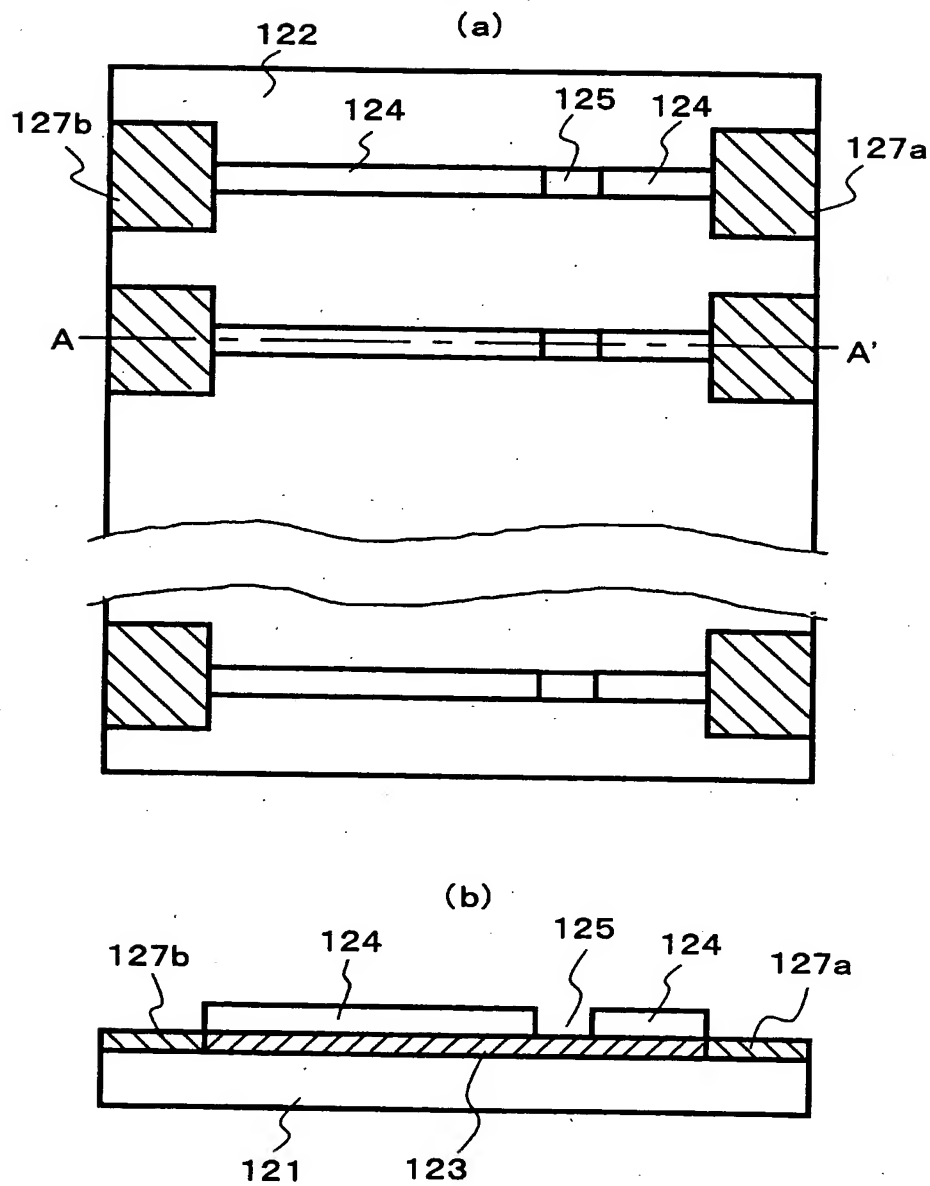
【図11】

図11



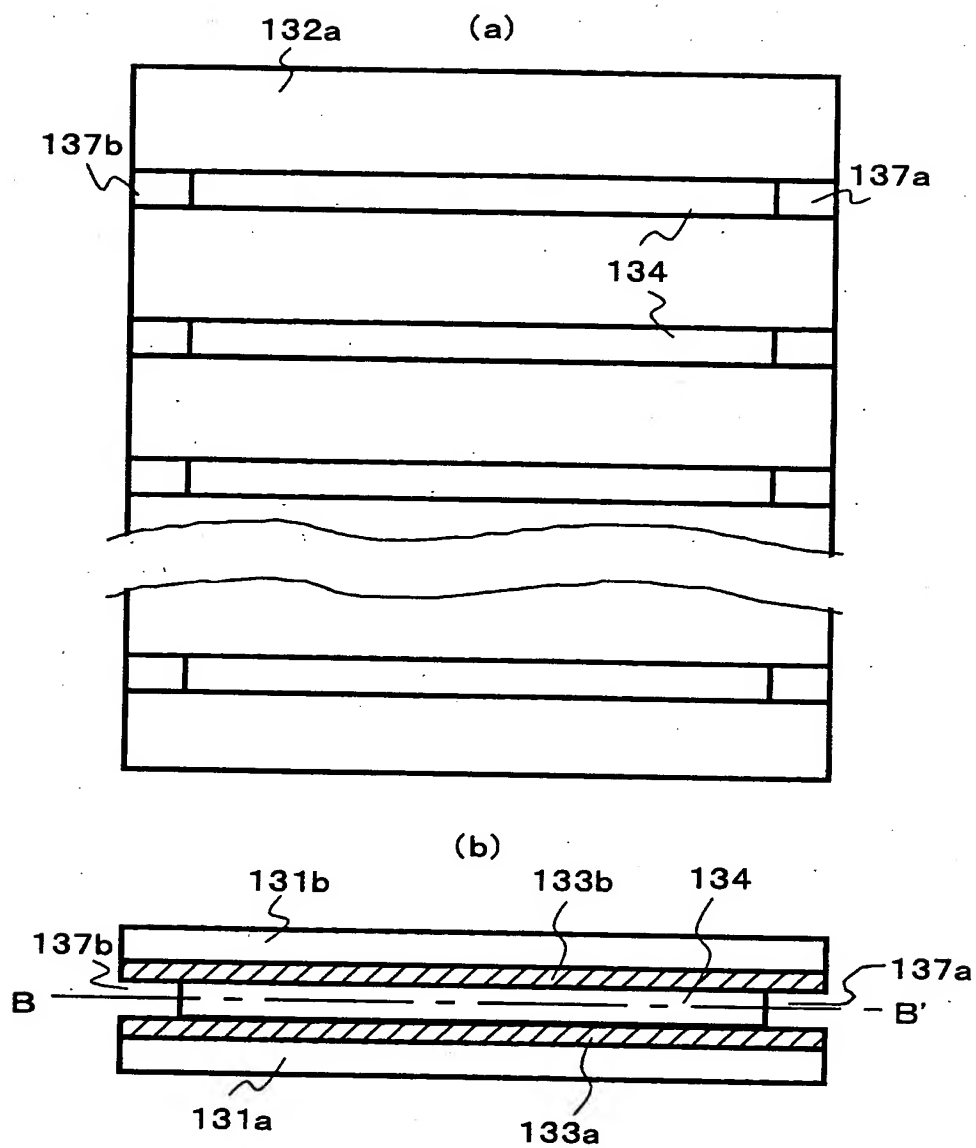
【図12】

図12



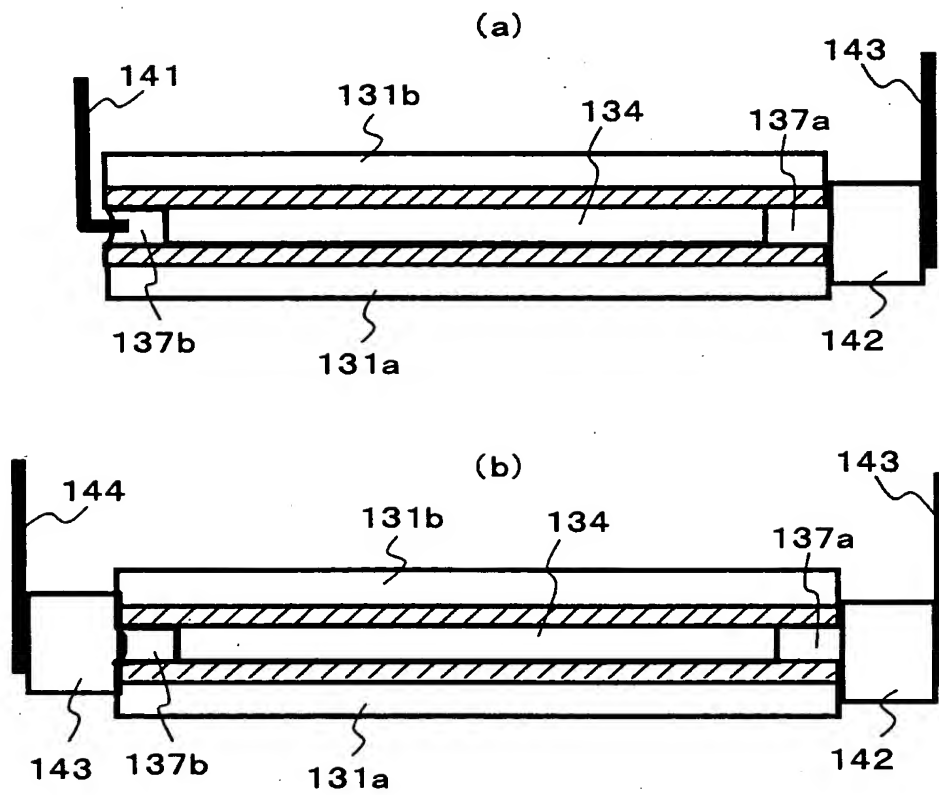
【図13】

図13



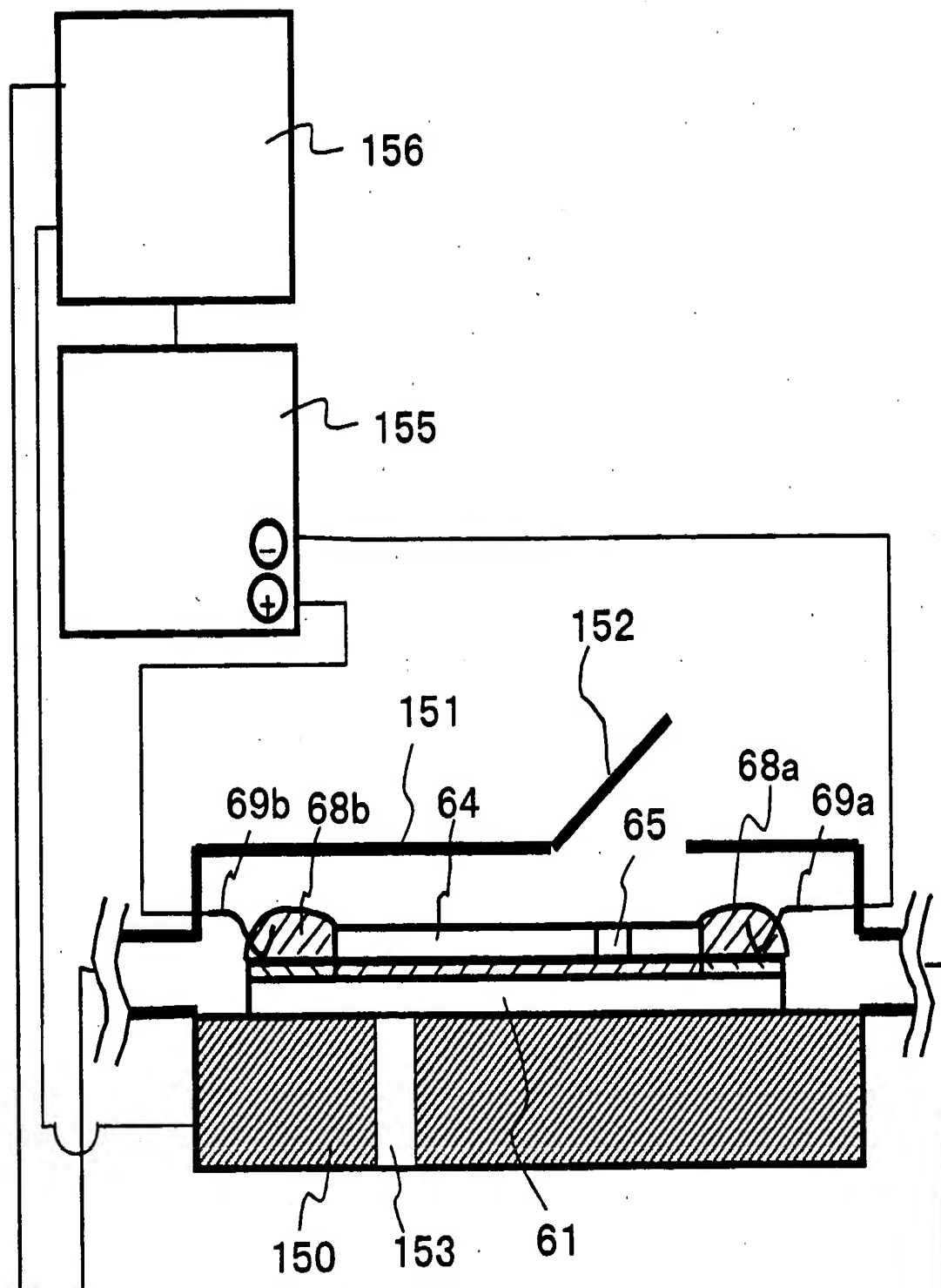
【図14】

図14



【図15】

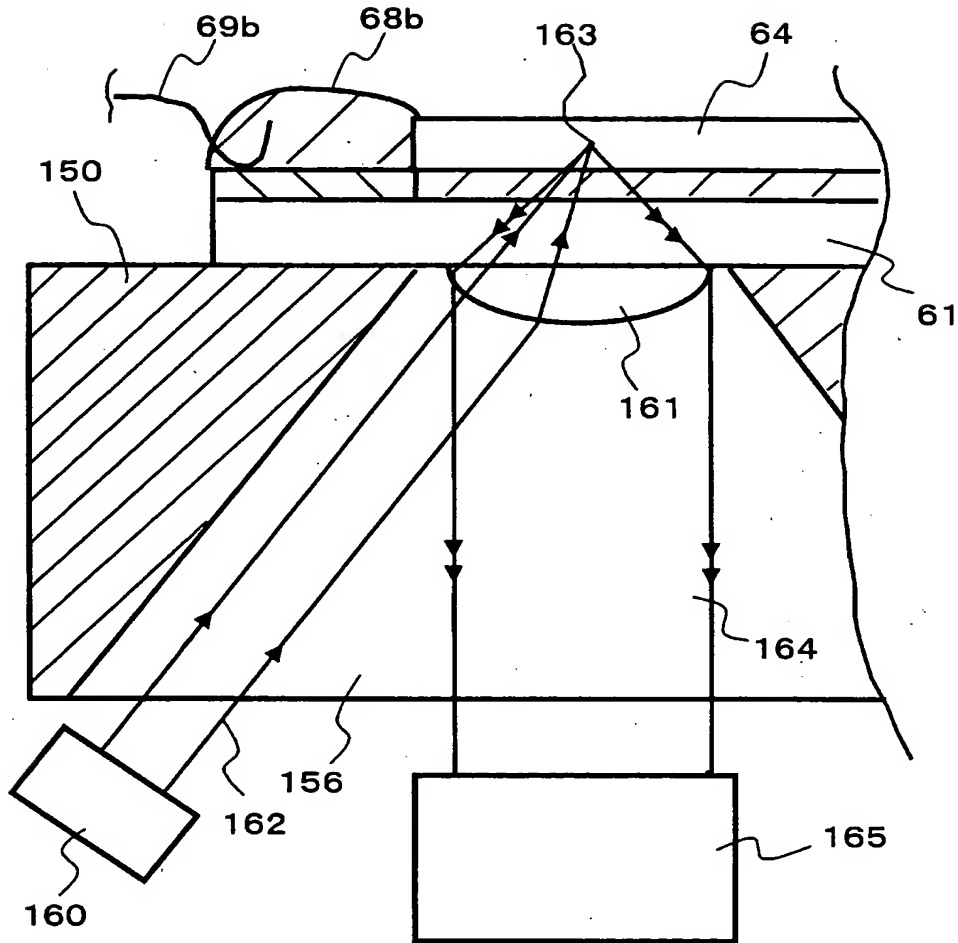
図15





【図16】

図16



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 微量試料の注入を容易に可能とする電気泳動チップを提供する。

【解決手段】 基板 6 1 の表面に、疎水性領域 6 2 と細長い親水性領域、電極 6 7 a, 6 7 b を形成する。親水性領域、電極は疎水性領域 6 2 により取り囲まれている。親水性領域に、ゲル前駆体溶液を滴下し重合させてゲル 6 4 を形成する。ゲルの途中には試料添加用間隙 6 5 を設ける。ニードル 7 1 の先端に試料溶液の液滴 7 2 を付着させ、液滴を疎水性領域 6 2 に接触させながらスリット 6 5 を通過させると、ニードルの液滴はゲル 6 4 の間隙 6 5 を埋める形でゲル 6 4 を連結する。その後、電極 6 7 a, 6 7 b に電界を印加して泳動を行う。

【選択図】 図 7

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [000005108]

1. 変更年月日 1990年 8月31日

[変更理由] 新規登録

住 所 東京都千代田区神田駿河台4丁目6番地  
氏 名 株式会社日立製作所

## Notification of Reasons for Refusal

Patent Application No.: 2001-385018  
Drafting Date: July 29, 2003  
Examiner of JPO: Koichi Kuroki 9218 2J00  
Representative/Applicant: Yusuke Hiraki  
Applied Provisions: Section 29, Paragraph (2) and Section 36

This application should be refused for the reason mentioned below. If the applicant has any objection to the reason, the objection should be submitted within 60 days from the date on which this notification was dispatched.

### Reason

#### Reason 1

The invention(s) in Claims 1 and 8 of the present application should not be granted a patent under the provision of Section 29, Paragraph (2) of the Patent Law since it could have easily been made by persons who have common knowledge in the technical field to which the invention(s) pertains, on the basis of the invention(s) described in Document 1 listed below, which was distributed in Japan or foreign countries prior to the filing of the present application.

### Note

1. JP, 2001-514746, A (Refer in particular to Fig. 1, Fig. 2, Claims and related description.)

(With regard to Claim 1,

cited Document 1 describes a capillary electrophoretic migration device (electrophoretic migration chip) consisting of a glass board equipped with electrophoretic migration medium formed linearly on the surface of the said glass board, of which the zone adjacent to the above-mentioned electrophoretic migration medium on the above-mentioned board surface is hydrophobic.

Moreover, the description in Claim 1 of the present application does not exclude a construction in which electrophoretic migration medium is installed between the hydrophilic areas formed on the surface of the two boards making the zone adjacent to it hydrophobic.

With regard to Claim 8,

in Claim 8, numerical limitations are placed on the width of electrophoretic migration medium, whereas no critical significance is observed on such numerical limitations even if the description in the specification or drawings of the present application is taken into consideration, and they are therefore perceived as a design matter to be conducted suitably by a manufacturer.

## Reason 2

The present application does not meet with the requirements set forth in Section 36, Paragraph (4) and Paragraph (6), Item (ii) of the Patent Law on the points mentioned below.

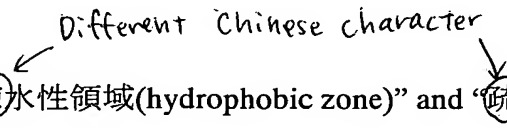
## Note

1. Claim 9 citing Claim 1 describes “the said length in the longitudinal direction of the

said gap ...”, whereas in Claim 1, no mention is made previously on construction concerning the “gap”. The description in Claim 9 is therefore not definite.

2. Descriptions of “疎水性領域(hydrophobic zone)” and “疏水性領域” appear throughout the specification, not being used in a unified way (refer, for example, to Paragraphs [0008], [0009], [0010], [0011], [0014], [0013], [0053], [0054], [0055], [0056], etc.).

Different Chinese character



(If both descriptions are used with different meanings, assertion should be made to that effect in a written statement.)

3. Since “Teflon” described in Paragraph [0020] is a trademark, description to that effect should be made.

Incidentally, it is observed that “電氣侵透流” described in Paragraph [0009] is apparently a clerical error.

For the claims other than the claim specified in this notification of reason(s) for refusal, no reason for refusal has been found at present. If any reason(s) for refusal is found later, notification will be made.

If the applicant has any inquires regarding these reasons for refusal, please contact the under-mentioned.

Phone: 03-3581-1101 Ext 3252

Fax: 03-3501- 0604



別紙 2

調整課 国際調整班 行き (各審査室の調整課行きの箱へ入れて下さい)

日米プロジェクト案件(優先基礎国: 日本(JP1US2))

出願番号: 特願 2001 - 385018 号

担当審査室 : 材料分析

担当審査官 : 黒田浩一

審査官コード : 2J

+++++

必要書類 (提出する書類にチェックして下さい):

- ☒ 別紙 2 (調整課への提出用書類の表紙として下さい。)
- ☒ オフィスアクション (拒絶理由・特許査定・拒絶査定) の写し
- ☐ 特許査定メモ ※FA時に特許査定をした場合のみ。
- ☐ 別紙 1
- ☒ クラスタ検索の検索式の画面コピー ※クラスタ検索を行った場合のみ。
- ☐ 検索報告書の写し ※外注案件であった場合のみ。
- ☐ 外国特許文献・非特許文献サーチの検索式のコピー ※外国特許文献・非特許文献検索を行った場合のみ。
- ☐ 非特許文献の写し (色つきペンで引用箇所を囲ったもの) ※非特許文献を引用文献とした場合のみ。
- ☒ 今回の審査の対象となったクレームの写し



## 拒絶理由通知書

特許出願の番号	特願 2001-385018
起案日	平成 15 年 7 月 29 日
特許庁審査官	黒田 浩一 9218 2J00
特許出願人代理人	平木 祐輔 様
適用条文	第 29 条第 2 項、第 36 条

この出願は、次の理由によって拒絶をすべきものである。これについて意見があれば、この通知書の発送の日から 60 日以内に意見書を提出して下さい。

### 理 由

#### 理由 1

この出願の請求項 1，8 に係る発明は、その出願前日本国内又は外国において頒布された下記 1 の刊行物に記載された発明に基いて、その出願前にその発明の属する技術の分野における通常の知識を有する者が容易に発明をすることができたものであるから、特許法第 29 条第 2 項の規定により特許を受けることができない。

### 記

1. 特表 2001-514746 号公報（特に、第 1 図、第 2 図、クレーム及び関連記載参照）

（請求項 1 に対して、

上記引用例 1 には、ガラス基板と、該ガラス基板の表面に線状に形成された泳動媒体とを備え、前記基板表面の前記泳動媒体に隣接する領域が疎水性であるキャピラリ電気泳動装置（電気泳動チップ）が、記載されている。

なお、本願請求項 1 の記載では、2 枚の基板の表面に形成された親水性領域間の間に泳動媒体を設け隣接する領域を疎水性とした構成を排除するものではない。）

請求項 8 に対して、

請求項 8 では、電気泳動媒体の幅について数値限定を行っているが、本願明細書又は図面の記載を参酌しても係る数値限定に何ら臨界的意義は認められず、当業者が適宜行う設計事項であると認められる。

）

## 理由 2

この出願は、特許請求の範囲の記載が下記の点で、特許法第36条第4項、第6項第2号に規定する要件を満たしていない。

### 記

1. 請求項1を引用した請求項9には、「前記間隙の前記長手方向の長さが・・・」と記載されているが、請求項1には「間隙」に関する構成が前出しておらず、請求項9の記載が明確でない。

2. 明細書全体にわたり「疎水性領域」と「疏水性領域」（例えば、段落番号【0008】、【0009】、【0010】、【0011】、【0014】、【0013】、【0053】、【0054】、【0055】、【0056】等参照）の記載があり、統一して記載されていない。

（両者が異なる意味で用いられている場合には、その旨意見書において主張されたい。）

3. 段落番号【0020】に記載の「テフロン」は登録商標であるので、その旨記載されたい。

なお、段落番号【0009】に記載の「電気侵透流」は、明らかな誤記であると認められる。

この拒絶理由通知書中で指摘した請求項以外の請求項に係る発明については、現時点では、拒絶の理由を発見しない。拒絶の理由が新たに発見された場合には拒絶の理由が通知される。

なお、この拒絶理由通知に不明な点がある場合、下記までご連絡下さい。

TEL 03-3581-1101 内線3252

FAX 03-3501-0604

審査室 審査第1部材料分析

担当 黒田 浩一

---

### 先行技術文献調査結果の記録

・調査した分野      IPC第7版  
                         G01N27/447

C 1 2 N 1 5 / 0 0  
C 1 2 M 1 / 0 0 - 1 / 3 4  
DB名： J I C S T ファイル ( J O I S )

・ 先行技術文献  
国際公開第01/54810号パンフレット  
特開2000-46797  
特開2002-145916  
特開2002-18278  
特開2002-5887  
特開2001-157855  
特開2000-214132  
特開平6-169756

この先行技術文献調査結果の記録は、拒絶理由を構成するものではない。

---

部長／代理	審査長／代理	審査官	審査官補
_____	_____	_____	_____

---

調査した技術分野／Technical field(s) to be searched

別紙1

1. 日本語特許文献サーチ／Japanese patent documents Search

(1) Fタームテーマコード／Theme code of F-term \*記載例／Example : 2B111

2G056	4B029	4B024

(2) FI \*記載例／Example : A01B1/02@B, C, D

G01N27/26, 331	G01N27/26, 315

2. 外国特許文献・非特許文献サーチ／Foreign patent documents or NPL Search

DB名／Name of DB , コピー番号／No. of copy (or Search formula)

\*記載例／Example : DB:USPTO Full text DB, Copy No.1 or DB:STN-CAS, Copy No.2

DB:ECLA G01N27/447	DB:USC (204/450+204/451+204/452+204/453+204/454+204/456+ 204/470+204/605+204/696+204/471+204/476)/US*(HY DROPHOBIC*HYDROPHILIC)/TX
DB: USPTO Full text DB ACLM/(ELECTROPHORESIS AND HYDROPHOBIC AND HYDROPHILIC)	DB: <i>key spelling error</i>
DB: JOIS S テンキエイト? AND ヲスイ? AND シンスイ? AND PY<2001	DB:

3. オンライン非特許文献サーチの有無／Automated NPL Search was performed or not

非特許文献を行ったか否かをチェック(「✓」)して下さい。

→ ☒ 行った／Automated NPL search was performed

→ ☐ 行わなかった／Automated NPL search wasn't performed

4. その他／Else

--	--

【書類名】 明細書

【発明の名称】 電気泳動チップ

【特許請求の範囲】

【請求項1】 電気絶縁性の基板と、前記基板の表面に線状に形成された泳動媒体とを備え、前記基板表面の前記泳動媒体に隣接する領域が疎水性であることを特徴とする電気泳動チップ。

【請求項2】 表面に線状の親水性領域と前記親水性領域に接する疎水性領域とを有する電気絶縁性の基板と、前記基板の前記親水性領域上に長手方向の一カ所に所定長の間隙を設けて形成された泳動媒体と、前記泳動媒体の長手方向の両端部に接続される一対の電極とを備えることを特徴とする電気泳動チップ。

【請求項3】 請求項1又は2記載の電気泳動チップにおいて、前記基板はガラスであることを特徴とする電気泳動チップ。

【請求項4】 請求項1又は2記載の電気泳動チップにおいて、前記泳動媒体はゲルであることを特徴とする電気泳動チップ。

【請求項5】 請求項2記載の電気泳動チップにおいて、試料を前記間隙に保持することを特徴とする電気泳動チップ。

【請求項6】 請求項2記載の電気泳動チップにおいて、前記間隙は前記泳動媒体の長手方向中心から一方の端部に偏った位置に設けられていることを特徴とする電気泳動チップ。

【請求項7】 請求項6記載の電気泳動チップにおいて、前記間隙によって二分された前記泳動媒体の2つの要素媒体のうち長い方の要素媒体の長さが10mmから100mmの範囲にあることを特徴とする電気泳動チップ。

【請求項8】 請求項1又は2記載の電気泳動チップにおいて、前記泳動媒体の幅が0.1mmから5mmの範囲にあることを特徴とする電気泳動チップ。

【請求項9】 請求項1記載の電気泳動チップにおいて、前記間隙の前記長手方向の長さが0.2mmから1mmの範囲にあることを特徴とする電気泳動チップ。

【請求項10】 表面にほぼ平行に形成された線状の複数の親水性領域と前記親水性領域に隣接して設けられた疎水性領域とを有する電気絶縁性の基板と、

前記基板の前記複数の親水性領域上に各々長手方向の一カ所に所定長の間隙を設けて形成された複数の泳動媒体と、前記複数の泳動媒体の両端部にそれぞれ共通して接続される一組の電極とを備えることを特徴とする電気泳動チップ。

【請求項11】 表面にほぼ平行に形成された線状の複数の親水性領域と前記親水性領域に隣接して設けられた疎水性領域とを有する電気絶縁性の基板と、前記基板の前記複数の親水性領域上に各々長手方向の一カ所に所定長の間隙を設けて形成された複数の泳動媒体と、前記複数の泳動媒体の両端部にそれぞれ個別に接続される複数の電極とを備えることを特徴とする電気泳動チップ。

【請求項12】 表面に細長い形状を有する親水性領域と前記親水性領域を取り囲む疎水性領域とを有する電気絶縁性の基板と、前記基板の前記親水性領域上に長手方向の一カ所に所定の間隙を設けて形成された泳動媒体とを備え、前記泳動媒体と前記間隙に供給される試料溶液とにより電気泳動路が形成されることを特徴とする電気泳動チップ。

#### 【発明の詳細な説明】

#### 【0001】

#### 【発明の属する技術分野】

本発明は、生体試料の分離分析装置に関し、特に、ゲノム由来のDNA断片、RNA由来のポリヌクレオチド断片、タンパク質、ペプチド等の分離分析に好適な電気泳動チップ、及びこれを用いる電気泳動装置に関するものである。

#### 【0002】

#### 【従来の技術】

生体物質の分析や分取には電気泳動を用いた分離技術が最も広く用いられている。例えば、DNA解析の分野では、ポリアクリルアミドゲル電気泳動を用いてDNAの配列決定が頻繁に行われている。既に、大腸菌、酵母のような微生物の全ゲノム配列が解明され、多細胞生物では、線虫、ハエの全ゲノムがほぼ解明されている。ヒトの全ゲノム配列は2000年代の早い時期に配列解析が終了する予定である。このような高分解能を有する電気泳動の泳動媒体としては、ポリアクリルアミドゲルのほか、メチルセルロースやアクリルアミドポリマーやその誘導体からなる高分子が用いられる。

基本条件設定 詳細条件設定

☒ 国内特許  
☒ ◆全文献指定  
☒ √公開後指定

☒ 外国特許  
☒ 発行国  
☒ 全発行国

☒ 非特許  
☒ 文献種別  
☒ 全種別

入力・表示選択 26056

主テーマ 48029  
 公開基準日 ~ 20011218  
 検索指定 ∠和文 ∠英文 ∠文献メモ ◆和文+文献メモ

一次検索 二次検索(キーワード) 二次検索(全文) 登録論理式一覧 検索ワード

(電気泳動\*疎水\*親水)/tx-y2-y3-y11

検索
 スクリーニング
 文献一覧
 再利用
 PATDAS

簡易 詳細 ステップサーチ 履歴印刷 論理式登録

No.	ファイル名	国内	外国	非特許	論理式
¥01	20030729103329	2551 件	8 件	1 件	一次 g01n27/26.315+g01n27/26.331
¥02	20030729103444	321 件	0 件	0 件	一次 ¥1*(親水*疎水)/tx
¥03	20030729103506	135 件	0 件	0 件	一次 ¥1*(親水*疎水)/tx
¥04	20030729111550	0 件	0 件	0 件	一次 (204/450+204/451+204/452+204/453+204/454+204/455+204/456+204/470+204/471+204/476)/us*(t
¥05	20030729111631	0 件	0 件	0 件	一次 (204/450+204/451+204/452+204/453+204/454+204/455+204/456+204/470+204/471+204/476)/us*(t
¥06	20030729111948	0 件	91 件	0 件	一次 (204/450+204/451+204/452+204/453+204/454+204/455+204/456+204/470+204/471+204/476)/us*(t
¥07	20030729112708	0 件	122 件	0 件	一次 g01n27/447/ec*(hydrophobic*hydrophilic)/tx
¥08	20030729112906	0 件	56 件	0 件	一次 ¥7-¥6
¥09	20030729113357	0 件	0 件	0 件	一次 (電気泳動*疎水*親水)/tx-y2-y3
¥10	20030729113521	4446 件	0 件	0 件	一次 (電気泳動*疎水*親水)/tx-y2-y3
¥11	20030729114104	377 件	0 件	0 件	一次 (電気泳動*疎水*親水)/tx-aa20-y2-y3
¥12	20030729114427	165 件	0 件	0 件	一次 (電気泳動*疎水*親水)/tx-y2-y3-y11

B  
machine

## Notification of Reasons for Refusal

Patent Application No.: Patent Application No. 2001-385018

Drafting Date: July 31, 2003

Examiner: Koichi Kuroda 9218 2J00

Representative / Applicant: Assistant of 祐 Hiraki

Applied Provision: Section 29 (2) and Section 36

This application should be refused for the reasons mentioned below. If the applicant has any argument against the reasons, such argument should be submitted within 60 days from the date on which this notification was dispatched.

### Reason

#### Reason 1

Since the person who has common knowledge in the technical field to which the invention pertains prior to the filing of the subject application could easily invent it on the basis of the invention described in the publication listed as 1 below distributed in Japan or foreign countries prior to the filing of the subject application, the invention in claims 1 and 8 of this application should not be granted a patent under the provision of Section 29 (2) of the Patent Law.

### Note

1. Special Table 2001 7514746 item gazette (Especially, see Fig. 1, Fig. 2, the claim, and the relation description. )

In above-mentioned cited document 1, the surface of the glass substrate and the glass substrate is equipped with the formation された 泳動 medium like the line, and the capillary electrophoretic device whose neighbor region is hydrophobe



(electrophoretic chip) ..(.. is described to the pre-record 泳動 medium of the above-mentioned substrate surface for claim 1.

In the description of claim 1 of the subject application, it swims and 動 medium is installed and the composition in which the neighbor region is assumed to be hydrophobe is not excluded between between the hydrophile sections formed on the surface of two substrates..)

Any significance of critical range is not perceived in the numerical limitation that covers even if the description of the specification of the subject application or the drawing is taken into consideration, and it is perceived that it is a design matter that a person skilled in the art does arbitrarily though the numerical limitation of the width of the electrophoretic medium is done to claim 8 in claim 8. )

## Reason 2

The description of the claim of this application doesn't comply with the requirement under Section 36 (4) and (6) (ii) of the Patent Law on the points mentioned below.

## Note

1.Composing concerning "Space" in claim 1 ..former.. doesn't put out, and the description of claim 9 is not clear though it is described, "Length of the above-mentioned longitudinal direction of the above-mentioned space" in claim 9 that cited claim 1.

2."Hydrophobe section" and "Canal section" (For instance, see paragraph number [0008], [0009], [0010], [0011], [0014], [0013], [0053], [0054], [0055], and [0056], etc.) are described over the entire specification, and it unifies and it is not described.

(Insist so in the argument when both are used in a different meaning. )

3.Describe so since "Teflon" described in paragraph number [0020] is a registered trademark.

It is perceived that "Electric 侵 Toru style" described in paragraph number [0009] is a clear error in writing.

No reason for refusal has been found so far about the invention in claims other than the claim specified in this Notification of Reasons for Refusal. The reason for the refusal is notified when the reason for the refusal is newly found.

Please contact the following when there is an unclear point in this Notification of Reasons for Refusal.

TEL 03-3581-1101 extension 3252

FAX 03-3501-0604

Material the first in examination room examination fee analysis

Charge:Koichi Kuroda

Record of the result of prior art search

·Technical field to be searched: IPC the 7th

G01N27/447

C12N15/00

C12M1/00?1/34

DB Name: JICST file(JOIS)

·Prior art documents

International Disclosure Pamphlet No. 01/54810

Open 2000-46797 special

Open 2002-145916 special

Open 2002-18278 special  
Open 2002-5887 special  
Open 2001-157855 special  
Open 2000-214132 special  
Special evolution 6-169756

This record of the result of prior art search is not a component of the reasons for refusal.

Director-General / Deputy Director-General: Director / Deputy Director: Examiner:  
Assistant Examiner

Toru Hongo: Koichi Kuroda

8405: 9218

## 拒絶理由通知書

期 限	15.10.-6
-----	----------

特許出願の番号	特願 2 0 0 1 - 3 8 5 0 1 8
起案日	平成 1 5 年 7 月 3 1 日
特許庁審査官	黒田 浩一 9 2 1 8 2 J 0 0
特許出願人代理人	平木 祐輔 様
適用条文	第 2 9 条第 2 項、第 3 6 条

この出願は、次の理由によって拒絶をすべきものである。これについて意見があれば、この通知書の発送の日から 6 0 日以内に意見書を提出して下さい。

## 理 由

## 理由 1

この出願の請求項 1, 8 に係る発明は、その出願前日本国内又は外国において頒布された下記 1 の刊行物に記載された発明に基いて、その出願前にその発明の属する技術の分野における通常の知識を有する者が容易に発明をすることができたものであるから、特許法第 2 9 条第 2 項の規定により特許を受けることができない。

## 記

1. 特表 2 0 0 1 - 5 1 4 7 4 6 号公報 (特に、第 1 図、第 2 図、クレーム及び  
= WO 98/39645  
関連記載参照)

(請求項 1 に対して、

上記引用例 1 には、ガラス基板と、該ガラス基板の表面に線状に形成された泳動媒体とを備え、前記基板表面の前記泳動媒体に隣接する領域が疎水性であるキャピラリ電気泳動装置 (電気泳動チップ) が、記載されている。

なお、本願請求項 1 の記載では、2 枚の基板の表面に形成された親水性領域間の間に泳動媒体を設け隣接する領域を疎水性とした構成を排除するものではない。  
。)

請求項 8 に対して、

請求項 8 では、電気泳動媒体の幅について数値限定を行っているが、本願明細書又は図面の記載を参酌しても係る数値限定に何ら臨界的意義は認められず、当業者が適宜行う設計事項であると認められる。

)

理由 2

この出願は、特許請求の範囲の記載が下記の点で、特許法第36条第4項、第6項第2号に規定する要件を満たしていない。

記

1. 請求項1を引用した請求項9には、「前記間隙の前記長手方向の長さが・・・」と記載されているが、請求項1には「間隙」に関する構成が前出しておらず、請求項9の記載が明確でない。

2. 明細書全体にわたり「疎水性領域」と「疏水性領域」（例えば、段落番号【0008】、【0009】、【0010】、【0011】、【0014】、【0013】、【0053】、【0054】、【0055】、【0056】等参照）の記載があり、統一して記載されていない。

（両者が異なる意味で用いられている場合には、その旨意見書において主張されたい。）

3. 段落番号【0020】に記載の「テフロン」は登録商標であるので、その旨記載されたい。

なお、段落番号【0009】に記載の「電気侵透流」は、明らかな誤記であると認められる。

この拒絶理由通知書中で指摘した請求項以外の請求項に係る発明については、現時点では、拒絶の理由を発見しない。拒絶の理由が新たに発見された場合には拒絶の理由が通知される。

なお、この拒絶理由通知に不明な点がある場合、下記までご連絡下さい。

TEL 03-3581-1101 内線3252

FAX 03-3501-0604

審査室 審査第1部材料分析

担当 黒田 浩一

-----  
先行技術文献調査結果の記録

・調査した分野      I P C 第 7 版  
                         G 0 1 N 2 7 / 4 4 7

整理番号:H101487 発送番号:273267 発送日:平成15年 8月 5日 3/E

C 1 2 N 1 5 / 0 0

C 1 2 M 1 / 0 0 - 1 / 3 4

DB名: J I C S Tファイル (J O I S)

・ 先行技術文献

国際公開第01/54810号パンフレット

特開2000-46797

特開2002-145916

特開2002-18278

特開2002-5887

特開2001-157855

特開2000-214132

特開平6-169756

この先行技術文献調査結果の記録は、拒絶理由を構成するものではない。

machin<sup>A</sup>

# Notification of Reasons for Refusal

Patent Application No.            Application for patent 2001-385018  
Drafting Date                    July 31, Heisei 15  
Examiner of JPO                Koichi Kuroda                    9218 2J00  
Representative/Applicant        Mr. Yusuke Hiraki  
Applied Provision                Section 29(2), Section 36

This application should be refused for the reasons mentioned below. If the applicant has any argument against the reasons, such argument should be submitted within 60 days from the date on which this notification was dispatched.

## Reasons

### Reason 1

the following to which invention concerning Claims 1 and 8 of this application was distributed in this domestic one or a foreign country on that application previous day -- since persons who have common knowledge in the technical field to which the invention pertains can do invention easily before that application based on invention indicated by the publication of 1, it cannot grant under the provision of Section 29(2) of the Patent Law.

## Note

### 1. JP2001-514746 (Refer to Fig. 1, Fig. 2, Claim, and Related Publication Especially)

(The above-mentioned cited document 1 is equipped with a glass substrate and the migration medium formed in the surface of this glass substrate at the line to Claim 1, and the capillary-electrophoresis device (electrophoresis chip) with the hydrophobic field contiguous to said migration medium on said surface of a substrate is

indicated.)

In addition, in the description of this application Claim 1, the constitution which made hydrophobic the field which forms a migration medium and adjoins between the hydrophilic fields formed in the surface of two substrates is not eliminated.

Although numerical determination is performed about the width of an electrophoresis medium by Claim 8 to Claim 8, the critical-like meaning is not perceived in the numerical determination which starts even if it takes the description of the specification or a drawing into consideration at all, but being the design matter which a person skilled in the art performs appropriately is perceived.

## Reason 2

This application is not complying the requirements which the description of the scope of claims in the subject application specifies to Section 36(4) of the Patent Law and (6)(2) in the following respects.

### Note

1. Although indicated as "the length of said longitudinal direction of said gap ..." by Claim 9 which quoted Claim 1, the constitution about a "gap" does not appear above to Claim 1, and the description of Claim 9 is not clear.

2. Over the whole specification, it is, and the description of a "hydrophobic field" and a "canal nature field" (for example, references, such as paragraph 0008, [0009], [0010], [0011], [0014], [0013], [0053], [0054], [0055], and [0056]) unifies, and is not indicated.

(When used by the meaning from which both differ, please assert that in an argument.)

3. To paragraph 0020, since "Teflon" of a description is a registered trademark, that should indicate.

In addition, it is perceived to paragraph 0009 that "the electric 侵透 style" of a description is a clear clerical error.



For the claims other than the claims specified in this notification of reasons for refusal, no reason for refusal is found at present. If any reason for refusal is found later, it will be notified. If any reason for refusal is found later, it will be notified.

In addition, when an unknown point is in this notice of reasons for rejection, please contact me to the following.

TEL 03-3581 -1101 extension 3252

FAX 03-3501-0604

Examination room examination part I material analysis

Charge Koichi Kuroda

Record of the result of prior art search

- Technical fields to be searched IPC, 7th edition

G01N27/447

C12N15/00

C12M1/00-1/34

DB name: JICST file (JOIS)

- Prior art documents

IP01/54810

JP,2000-46797,A

JP,2002-145916,A

JP,2002-18278,A

JP,2002-5887,A

JP,2001-157855,A

JP,2000-214132,A

JP,6-169756,A

These records are not components of the reasons for refusal.

The manager/substitute judge assistant	A chief examiner / substitute judge	A
---	-------------------------------------	---

Hongo 徹	Koichi Kuroda
---------	---------------

8405	9218
------	------